

**ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ  
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ  
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΒΕΛΤΙΩΣΗΣ ΦΥΤΩΝ ΚΑΙ ΓΕΩΡΓΙΚΟΥ ΠΕΡΑΜΑΤΙΣΜΟΥ**

**ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ  
ΦΥΤΑ ΜΕΓΑΛΗΣ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑΣ ΚΑΙ ΒΕΛΤΙΩΣΗ ΦΥΤΩΝ**

---

**ΜΕΛΕΤΗ ΤΩΝ ΔΙΑΦΟΡΙΚΑ ΕΚΦΡΑΖΟΜΕΝΩΝ  
ΓΟΝΙΔΙΩΝ ΠΟΥ ΕΜΠΛΕΚΟΝΤΑΙ ΣΤΗΝ  
ΟΦΘΑΛΜΟΠΤΩΣΗ ΣΤΗ ΦΙΣΤΙΚΙΑ**

---

**Μεταπτυχιακή μελέτη  
ΑΘΑΝΑΣΙΟΣ Ν. ΤΣΑΦΟΥΡΟΣ**

**ΑΘΗΝΑ 2012**

**ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ  
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ  
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΒΕΛΤΙΩΣΗΣ ΦΥΤΩΝ ΚΑΙ ΓΕΩΡΓΙΚΟΥ ΠΕΡΑΜΑΤΙΣΜΟΥ**

---

**ΜΕΛΕΤΗ ΤΩΝ ΔΙΑΦΟΡΙΚΑ ΕΚΦΡΑΖΟΜΕΝΩΝ  
ΓΟΝΙΔΙΩΝ ΠΟΥ ΕΜΠΛΕΚΟΝΤΑΙ ΣΤΗΝ  
ΟΦΘΑΛΜΟΠΤΩΣΗ ΣΤΗ ΦΙΣΤΙΚΙΑ**

---

**Μεταπτυχιακή μελέτη  
ΑΘΑΝΑΣΙΟΣ Ν. ΤΣΑΦΟΥΡΟΣ**

**ΑΘΗΝΑ 2012**

**ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΜΛΕΤΗ**  
**του**  
**Αθανασίου Νικολάου Τσαφούρου**

---

**ΜΕΛΕΤΗ ΤΩΝ ΔΙΑΦΟΡΙΚΑ ΕΚΦΡΑΖΟΜΕΝΩΝ**  
**ΓΟΝΙΔΙΩΝ ΠΟΥ ΕΜΠΛΕΚΟΝΤΑΙ ΣΤΗΝ**  
**ΟΦΘΑΛΜΟΠΤΩΣΗ ΣΤΗ ΦΙΣΤΙΚΙΑ**

---

**Τριμελής Συμβουλευτική και Εξεταστική Επιτροπή**

- 1. Ανδρέας Ε. Βολουδάκης, Επίκουρος Καθηγητής Γ.Π.Α, Επιβλέπων**
- 2. Γεώργιος Ν. Σκαράκης, Καθηγητής Γ.Π.Α., μέλος**
- 3. Πέτρος Α. Ρούσσο, Επίκουρος Καθηγητής Γ.Π.Α., μέλος**

**ΑΘΗΝΑ 2012**

## **ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ**

Θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Επίκουρο Καθηγητή του Γ.Π.Α. και επιβλέποντα Καθηγητή της παρούσας εργασίας κ. Ανδρέα Βολουδάκη για την συμβολή του στην εκπόνηση και την συγγραφή της. Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω και τα υπόλοιπα μέλη της τριμελούς συμβουλευτικής και εξεταστικής επιτροπής, τον Καθηγητή Γεώργιο Σκαράκη και τον Επίκουρο Καθηγητή Πέτρο Ρούσσο για τις συμβουλές, τις επισυμάνσεις και τις διορθώσεις τους.

Ακόμη, θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά την Υποψήφια Διδάκτορα Ευαγγελία Κουτσιουμάρη για την ανεκτίμητη συμβολή της στην εκπόνηση της πτυχιακής εργασίας, συνέχεια της οποίας αποτελεί η παρούσα μεταπτυχιακή μελέτη και τις πολύτιμες συμβουλές της σε όλα τα στάδια της μεταπτυχιακής μελέτης. Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω την Βιοχημικό-Βιοτεχνολόγο Ιωάννα Καραμιχάλη για τις εξαιρετικές ιδέες της και την πολύτιμη βοήθειά της στην εκτέλεση των βιοπληροφοριακών αναλύσεων.

Αθανάσιος Νικολάου Τσαφούρος

# ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

Περίληψη.....	1
Abstract.....	3
<b>1. Εισαγωγή.....</b>	<b>4</b>
1.1 Η φιστικιά και η οικονομική της σημασία.....	4
1.2 Στατιστικά και οικονομικά στοιχεία της καλλιέργειας της φιστικιάς στην Ελλάδα και τον κόσμο.....	4
1.3 Βοτανική ταξινόμηση της φιστικιάς, στοιχεία βιολογίας και οργανογραφία του δένδρου.....	5
1.4 Παρενιαιοτοφορία και οφθαλμόπτωση.....	6
α) Η οφθαλμόπτωση στη φιστικιά.....	6
1.5 Η βελτίωση της φιστικιάς.....	8
1.6 Λειτουργική γονιδιωματική.....	11
1.7 Διαφορικά εκφραζόμενα γονίδια και Κατασταλτικός Αφαιρετικός Υβριδισμός (K.A.Y.).....	12
1.8 Μέθοδοι αλληλούχησης.....	14
α) Η μέθοδος αλληλούχησης Sanger.....	14
β) Η μέθοδος αλληλούχησης Maxam & Gilbert.....	15
γ) Τεχνικές και πλατφόρμες αλληλούχησης 2 <sup>ης</sup> γενιάς (Next Generation Sequencing, NGS).....	16
1.9 Τα Expressed Sequence Tags (ESTs) και η ανάλυσή τους.....	17
1.10 Πληροφορίες για λογισμικά βιοπληροφορικής που χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα εργασία.....	18
Περίληψη της Πτυχιακής Εργασίας.....	19
Σκοπός της μεταπτυχιακής ερευνητικής εργασίας.....	21
<b>2. Υλικά και Μέθοδοι.....</b>	<b>22</b>
2.1 Φυτικό υλικό - Απομόνωση ολικού RNA (total RNA) - Απομόνωση mRNA - Παραγωγή cDNA - Εφαρμογή του κατασταλτικού αφαιρετικού υβριδισμού.....	22
2.2 Δημιουργία αφαιρετικών βιβλιοθηκών.....	22
2.3 Αποθήκευση βακτηρίων.....	25
2.4 Απομόνωση πλασμιδίων από τις βακτηριακές καλλιέργειες.....	25

2.5 Αλληλούχιση DNA.....	26
2.6 Βιοπληροφοριακή ανάλυση των αλληλουχιών που αποκτήθηκαν.....	26
<b>3. Αποτελέσματα.....</b>	<b>28</b>
3.1 Κλωνοποίηση των προϊόντων του Κ.Α.Υ. και δημιουργία cDNA αφαιρετικών βιβλιοθηκών.....	28
3.2 Απόκτηση «καθαρών» αλληλουχιών.....	29
3.3 Βιοπληροφοριακή ανάλυση των «καθαρών» αλληλουχιών I.....	29
3.4 Βιοπληροφοριακή ανάλυση των «καθαρών» αλληλουχιών II.....	32
<b>4. Συζήτηση.....</b>	<b>37</b>
<b>5. Βιβλιογραφία.....</b>	<b>42</b>
<b>6. Παράρτημα.....</b>	<b>47</b>

## Περίληψη

Η Ελλάδα κατέχει την έκτη θέση στην παραγωγή φιστικιών σε παγκόσμιο επίπεδο ενώ η καλλιέργεια της φιστικιάς (*Pistacia vera* L.) προσφέρει σημαντική οικονομική πρόσοδο στους παραγωγούς. Ένα από τα σημαντικότερα χαρακτηριστικά της καλλιέργειας είναι η υψηλής έντασης παρεννιαυτοφορία. Η παρεννιαυτοφορία στη φιστικιά εκδηλώνεται με το μηχανισμό της φυσιολογικής οφθαλμόπτωσης η οποία θεωρείται φαινόμενο σημαντικής οικονομικής σημασίας και συνίσταται στην πτώση ανθοφόρων οφθαλμών από βλαστούς τρέχουσας εποχής που φέρονται σε καρποφορούντες βραχίονες. Η περίοδος επαγωγής του σήματος της οφθαλμόπτωσης εντοπίζεται χρονικά το καλοκαίρι του έτους καρποφορίας κατά την περίοδο της ταχείας πλήρωσης του ενδοκαρπίου. Παρά την σημασία της, δεν έχει διευκρινηστεί ακόμη ούτε το κύριο αίτιο που την προκαλεί ούτε ο μηχανισμός εκδηλώσεώς της.

Στα πλαίσια της πτυχιακής εργασίας επιχειρήθηκε ανίχνευση διαφορών στη γονιδιακή έκφραση μεταξύ ανθοφόρων οφθαλμών από βλαστούς καρποφορούντων βραχιόνων (ON) και ανθοφόρων οφθαλμών από βλαστούς μη καρποφορούντων βραχιόνων (OFF) στη φιστικιά, κατά την περίοδο της επαγωγής του σήματος της οφθαλμόπτωσης της φιστικιάς. Προς τούτο, συλλέχθηκε φυτικό υλικό που το απετέλεσαν ON και OFF ανθοφόροι οφθαλμοί δένδρου ποικιλίας “Pontikis” και πραγματοποιήθηκαν δύο μοριακές αφαιρέσεις μεταγραφημάτων (mRNA) με τη χρήση του κατασταλτικού αφαιρετικού υβριδισμού (suppression subtractive hybridization, SSH). Η μια αφαίρεση ήταν η ON-OFF ενώ η δεύτερη ήταν η αντίθετη, ήτοι OFF-ON. Από τη διαδικασία του κατασταλτικού αφαιρετικού υβριδισμού παρατηρήθηκαν διαφορές στη γονιδιακή έκφραση μεταξύ των δύο κατηγοριών ανθοφόρων οφθαλμών, οι οποίες πιθανόν να σχετίζονται με το φαινόμενο της οφθαλμόπτωσης στη φιστικιά.

Ο σκοπός της παρούσας μεταπτυχιακής ερευνητικής εργασίας ήταν η σύγκριση μεταξύ μεταγραφημάτων γονιδίων τα οποία εκφράζονται σε ON και OFF οφθαλμούς φιστικιάς. Από τα αποτελέσματα του κατασταλτικού αφαιρετικού υβριδισμού δημιουργήθηκαν δύο αφαιρετικές cDNA βιβλιοθήκες: ON-OFF και OFF-ON. Η πρώτη περιείχε τα γονίδια τα οποία εκφράζονται σε οφθαλμούς οι οποίοι φέρονταν σε βλαστούς καρποφορούντων βραχιόνων ενώ η δεύτερη σε οφθαλμούς βλαστών οι οποίοι φέρονταν σε μη καρποφορούντες βραχίονες. Έπειτα, πραγματοποιήθηκε κλωνοποίηση των διαφορετικά εκφραζόμενων cDNA και μετασχηματισμός επιδεκτικών βακτηριακών κυττάρων *Escherichia coli*. Ακολούθησε επιλογή βακτηριακών αποικιών, η αναπτυξή τους σε υγρό θρεπτικό μέσο, η απομόνωση του πλασμιδιακού τους DNA και η αποστολή του για αλληλούχηση.

Οι αποκτηθείσες αλληλουχίες επεξεργάστηκαν με το πρόγραμμα VecScreen (NCBI), ενώ στη συνέχεια πραγματοποιήθηκε έλεγχος για τον εντοπισμό όμοιων αλληλουχιών μεταξύ των αποκτηθεισών με το πρόγραμμα StandAlone BLAST (NCBI). Ακολούθησε η πολλαπλή συστοίχιση των όμοιων αλληλουχιών με το λογισμικό ClustalW2 (EBI). Συνολικά ανακτήθηκαν 32 αλληλουχίες ενθεμάτων πλασμιδίων 12 από τη μοριακή αφαίρεση ON-OFF και 20 από τη μοριακή αφαίρεση OFF-ON. Τέλος, πραγματοποιήθηκε σύγκριση των αλληλουχιών που ανακτήθηκαν με τη χρήση του διαδικτυακού λογισμικού BLAST (NCBI) με τις αλληλουχίες που είναι κατάτεθειμένες στις βάσεις δεδομένων των φυτών για τις

πρωτεΐνες (blastx), τα νουκλεοτίδια (blastn) και για τα ESTs (Blastn-EST) καθώς επίσης και η κατηγοριοποίηση των ESTs σε κατηγορίες λειτουργιών γονιδίων σύμφωνα με το πρόγραμμα Blast2GO.

Από την σύγκριση των αποκτηθέντων αλληλουχιών γονιδίων για τους ON οφθαλμούς με τις αλληλουχίες που είναι κατατεθειμένες στις βάσεις δεδομένων προέκυψε ότι υπάρχει ομολογία με γονίδια τα οποία εμπλέκονται στην άμυνα του φυτού, σε αβιοτικές και βιοτικές καταπονήσεις, στον προγραμματισμένο κυτταρικό θάνατο (Π.Κ.Θ.) και τη μετάδοση σημάτων. Όσο αφορά τις αλληλουχίες των OFF οφθαλμών, βρέθηκε ομολογία με γονίδια τα οποία εκφράζονται σε καταστάσεις βιοτικών και αβιοτικών καταπονήσεων και γονιδίων τα οποία εκφράζονται ύστερα από επεμβάσεις με διάφορες ουσίες π.χ. κυαναμίδη, λαμιναρίνη και σαλικυλικό οξύ. Τέλος, βρέθηκε ομολογία με γονίδια τα οποίας σχετίζονται με αναπτυξιακές διαδικασίες, με το μεταβολισμό (βασικό και δευτερογενή), τη μεταφορά νερού στο κύτταρο, και τη μετάδοση σημάτων.



## Abstract

Hellas occupies the sixth position in the production of pistachio nuts worldwide. Alternate bearing in pistachio tree (*Pistacia vera* L.) is considered as a phenomenon of great commercial importance and is caused by bud abscission. However, the primary cause of this apoptotic phenomenon remains unknown despite its great importance.

In my undergraduate study (Tsafouros, 2010) the period of the bud abscission signal induction was determined and coincided with the period of fast kernel's development. In addition, the molecular isolation of genes involved in the alternate bearing phenomenon in pistachio by detecting the differences in the molecular expression between buds located on fruit-bearing (ON) and non fruit-bearing (OFF) branches during the period of the bud abscission signal induction was performed by suppression subtractive hybridization (SSH). The differences in gene expression that were detected were thought to be related with the bud abscission phenomenon and thus needed further study.

The aim of this study leading to MSc was the comparison between transcripts that are expressed in the "ON" and "OFF" pistachio buds in order to identify the differentially expressed genes. During the SSH two subtractive cDNA libraries were created: ON-OFF and OFF-ON. The first library contained transcripts that are expressed in ON buds, whereas the second one contained transcripts that are expressed in OFF buds. Cloning of the differentially expressed cDNAs, *E. coli* transformation, bacterial colony selection and plasmid DNA isolation were performed before DNAs were sent for sequencing.

The acquired sequences were edited with VecScreen (NCBI) followed by detection of the similar sequences between the acquired using StandAlone BLAST (NCBI) and multiple alignment with the ClustalW2 (EBI). The total number of the acquired sequences was 32; 12 for the molecular subtraction ON-OFF and 20 for the molecular subtraction OFF-ON.

Bioinformatics similarity analyses for the obtained cDNA sequences (ESTs) was performed by comparison with nonredundant protein, nucleotide and EST databases using BlastX, BlastN and Blast-EST searches provided through the NCBI database. Finally, categorization of the ESTs in gene functional categories with the software Blast2GO was held.

The results of the cDNA sequences similarity analyses for the ON bud sequences indicated homology with genes that are involved in plant defense, in biotic and abiotic stresses, signal transduction and the programmed cell death (PCD). Concerning the OFF bud sequences the similarity analyses indicated homology with genes which are expressed after treatment with cyanamide, laminarine and salicylic acid, genes involved in plant defense, abiotic and biotic stresses, genes which are related with metabolic processes, water transportation and signal transduction. Confirmation of the results will be done by real time RT-PCR (gene expression) and further study of selected genes will follow.

## 1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

### 1.1 Η φιστικιά και η οικονομική της σημασία

Η φιστικιά (*Pistacia vera* L.) κατάγεται από την κεντρική Ασία όπου βρέθηκαν μεγάλες εκτάσεις με αυτοφυή δένδρα στις περιοχές του σημερινού Ιράν, Τουρκμενιστάν και Αφγανιστάν (Hormaza & Wunsch, 2011).

Στην Ελλάδα, τα πρώτα φιστικόδενδρα καλλιεργήθηκαν στη Ζάκυνθο και τον Πύργο Ηλείας. Την πρώτη ώθηση της καλλιέργειας έδωσε ο Δημήτριος Παυλίδης (1860) με την εγκατάσταση φιστικεώνα στο Ψυχικό Αττικής, ενώ ουσιαστικά στη διάδοσή της συνέβαλαν οι γεωπόνοι Ορφανίδης (1869) και Γεννάδιος (1882), οι οποίοι δημιούργησαν τα πρώτα φυτώρια φιστικιάς στο δημόσιο δενδροκομείο στην περιοχή του σημερινού Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών (ΓΠΑ). Αρχικά η καλλιέργεια της φιστικιάς περιορίστηκε στα παράλια της Αττικής και τη νήσο Αίγινα. Από το 1950 άρχισε να επεκτείνεται στη Βοιωτία, Κορινθία, Εύβοια και Φθιώτιδα και από το 1968 στην κεντρική και βόρεια Ελλάδα (Θεσσαλία, Χαλκιδική, Ροδόπη), στην Κρήτη και στις Κυκλάδες.

### 1.2 Στατιστικά και οικονομικά στοιχεία της καλλιέργειας της φιστικιάς στην Ελλάδα και τον κόσμο

Η Ελλάδα κατέχει την έκτη θέση στον κόσμο σε παραγωγή φιστικιών (FAO, 2010). Τις πέντε πρώτες θέσεις κατέχουν: το Ιράν, οι Η.Π.Α., η Τουρκία, η Συρία και η Κίνα (FAO, 2010). Το 1981 οι συστηματικοί φιστικεώνες στην Ελλάδα είχαν έκταση 29,000 στρέμματα που αντιστοιχούσαν σε 809,873 δένδρα, ενώ η μέση παραγωγή ανερχόταν στους 2,627 τόνους. Το 1991 η έκταση ανερχόταν στα 41,129 στρέμματα, ο αριθμός των δένδρων σε 1.028.804 και η ετήσια παραγωγή φιστικιών στους 5,016 τόνους (Ποντίκης, 1996; Υπουργείο Αγροτικής Ανάπτυξης και Τροφίμων). Στον πίνακα 1 και τα σχήματα 1 και 2 απεικονίζονται ορισμένα πρόσφατα στοιχεία σχετικά με την καλλιέργεια της φιστικιάς στην Ελλάδα.

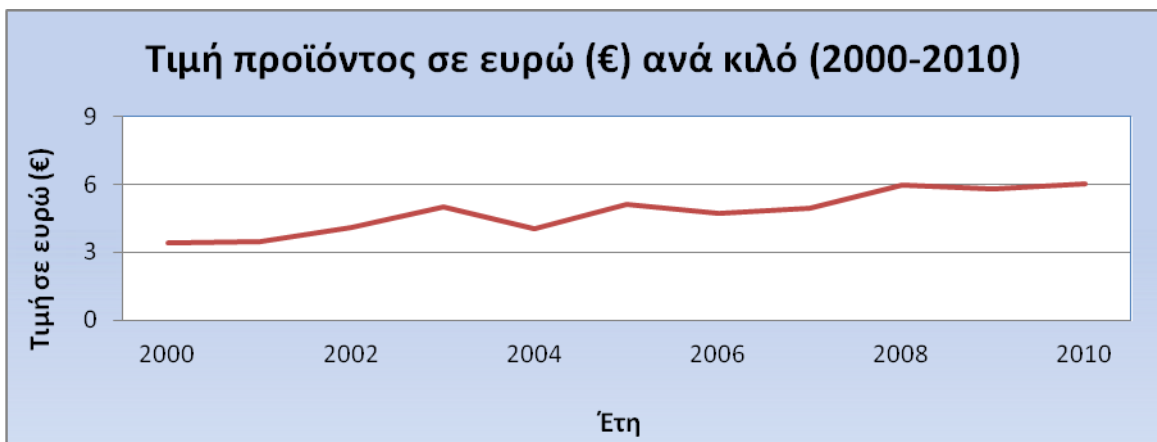
**Πίνακας 1:** Στατιστικά στοιχεία της καλλιέργειας της φιστικιάς στην Ελλάδα  
(πηγή: Υπουργείο Αγροτικής ανάπτυξης και τροφίμων)

Έτος	Αριθμός δένδρων	Παραγωγή (τόνοι)	Τιμή (€/κιλό)
2000	1.241.541	10.081	3,42
2001	1.199.569	10.016	3,46
2002	1.089.486	8.863	4,09
2003	1.101.692	8.520	5,01
2004	869.352	8.960	4,04
2005	874.687	7.310	5,10
2006	916.640	10.230	4,69
2007	905.942	9.840	4,96
2008	896.181	12.422	5,95
2009	867.307	11.554	5,77
2010	881.271	10.000	6,04

Τα τελευταία χρόνια παρατηρείται μείωση του αριθμού των δένδρων φιστικιάς που καλλιεργούνται στην Ελλάδα (Πιν. 1). Ωστόσο όπως φαίνεται από τα διαγράμματα η συνολική παραγωγή και η πρόσδοδος για τον παραγωγό παρουσιάζει αύξηση παρά τη μείωση του αριθμού των δένδρων.



Σχ. 1: Παραγωγή φιστικιών στην Ελλάδα (1999-2009) (πηγή: Υπουργείο Αγροτικής Ανάπτυξης και Τροφίμων)



Σχ. 2: Τιμή προϊόντος σε ευρώ ανά κιλό (€/kg) (πηγή: Υπουργείο Αγροτικής Ανάπτυξης και Τροφίμων)

### 1.3 Βοτανική ταξινόμηση της φιστικιάς, στοιχεία βιολογίας και οργανογραφία του δένδρου

Η φιστικιά είναι δικοτυλήδονο φυτό και ανήκει στην οικογένεια Anacardiaceae, στην τάξη Sapindales, υποκλάση Rosidae, κλάση Magnoliopsida. Το γένος *Pistacia*, στο οποίο ανήκει και η φιστικιά, περιλαμβάνει 11 είδη. Από αυτά στην Ελλάδα αυτοφύονται τα: *Pistacia terebinthus* L., *Pistacia terebinthus* cv *tsikoudia* (κν. τσικουδιά), *Pistacia lentiscus* L. (κν. σχίνος), *Pistacia lentiscus* cv. *chia* (κν. μαστιχόδενδρο) και *Pistacia vera* L. (κν. φιστικιά). Από αυτά τα δύο πρώτα μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως υποκείμενα της καλλιεργούμενης φιστικιάς.

Για την εύρεση πληροφοριών σχετικά με τους βοτανικούς χαρακτήρες της φιστικιάς και τις εδαφοκλιματολογικές απαιτήσεις της καλλιέργειας, σχετικά με τον καρπό, γενικές πληροφορίες σχετικά με την παρεννιαυτοφορία θα μπορούσε κανείς να συμβουλευθεί το σχετικό τμήμα στην πτυχιακή μου εργασία (Τσαφούρος κ.σ., 2010). Όσον αφορά τους οφθαλμούς της φιστικιάς, αυτοί διακρίνονται σε ξυλοφόρους και απλούς ανθοφόρους (Εικ. 1). Οι ξυλοφόροι οφθαλμοί φέρονται επάκρια και πλάγια στο κορυφαίο τμήμα της νέας βλάστησης και είναι οξυκατάληκτοι και μικρότεροι των ανθοφόρων. Αντίθετα, οι ανθοφόροι φέρονται στα πλάγια των βλαστών, είναι διογκωμένοι, σφαιρικοί και μεγαλύτεροι των

ξυλοφόρων. Κατά τη διάρκεια του χειμώνα οι οφθαλμοί εισέρχονται σε λήθαργο. Κατά την ανοιξιάτικη έκπτυξη οι ανθοφόροι οφθαλμοί προηγούνται χρονικά των ξυλοφόρων.



**Εικ.1.** Ανθοφόροι οφθαλμοί φιστικιάς. Φέρονται σε ξυλοποιημένο βλαστό θηλυκής φιστικιάς (κίτρινο βέλος). (Αθ. Τσαφούρος, προσωπικό αρχείο)

#### 1.4 Παρενιαντοφορία και οφθαλμόπτωση

Στη φιστικιά, η παρενιαντοφορία εκδηλώνεται με ένα μοναδικό -στο φυτικό βασίλειο- φυσιολογικό φαινόμενο. Το φαινόμενο αυτό καλείται οφθαλμόπτωση και συνίσταται στην πτώση ανθοφόρων οφθαλμών από βλαστούς της τρέχουσας εποχής σε βραχίονες που φέρουν καρπούς, ενώ αποδίδεται και σε γενετικά χαρακτηριστικά των ποικιλιών (Esmailpour and Khezri, 2006). Εκδηλώνεται χρονικά εντός του καλοκαιριού και πιο συγκεκριμένα κατά την περίοδο της ταχείας πλήρωσης του ενδοκαρπίου (Amiri, 2009; Vemmos, 1994; Crane and Iwakiri, 1987) και αποτελεί φαινόμενο σημαντικής οικονομικής σημασίας (Vemmos, 2005).

##### *α) Η οφθαλμόπτωση στη φιστικιά*

Ο φυσιολογικός μηχανισμός της οφθαλμόπτωσης παραμένει άγνωστος μέχρι τώρα. Η οφθαλμόπτωση εκδηλώνεται με πτώση των ανθοφόρων οφθαλμών της θηλυκής φιστικιάς από τους ετήσιους (πράσινους) βλαστούς, οι οποίοι αποτελούν προέκταση των καρποφορούντων βλαστών, και φέρονται σε καρποφορούντες βραχίονες, ενώ αφορά μόνο τους βραχίονες αυτούς χωρίς το φαινόμενο να παρατηρείται στους γειτονικούς μη καρποφορούντες βραχίονες (Wolpert and Ferguson, 1990; Vemmos *et al.*, 1994).

Έχει βρεθεί ότι η οφθαλμόπτωση επηρεάζεται από το γονότυπο, το υποκείμενο, τη φυλλική επιφάνεια και τις επιδράσεις του εδάφους. Το ποσοστό οφθαλμόπτωσης μπορεί να φτάσει και το 100% και έχει βρεθεί ότι αυξάνεται όταν μειώνεται η φυλλική επιφάνεια ανά βραχίονα, ενώ το έδαφος -με την υδατοχωρητικότητά του και τη συγκέντρωσή του σε θρεπτικά στοιχεία- επιδρά έμμεσα στην οφθαλμόπτωση επηρεάζοντας το φορτίο και την ανάπτυξη των δένδρων (Vemmos, 2010).

Πληθώρα εργασιών έχουν δημοσιευτεί σχετικά με τα αίτια της οφθαλμόπτωσης, χωρίς όμως να έχει υπάρξει κάποιο σαφές συμπέρασμα για αυτά. Έχουν μελετηθεί θρεπτικοί παράγοντες όπως είναι οι υδατάνθρακες και τα σάκχαρα (Vemmos, 2005; Spann *et al.*, 2008a κ.ά.), θρεπτικά στοιχεία (Rosecrance *et al.*, 1996; Rosecrance *et al.*, 1998), ορμονικοί παράγοντες (Crane and Iwakiri, 1987; Pontikis, 1990; Vemmos, 1994 κ.ά.) και πολυαμίνες (Roussos *et al.*, 2004; Khezri *et al.*, 2010), χωρίς όμως να έχει αποδειχθεί ακόμα ποιο είναι το κύριο αίτιο που την προκαλεί. Έχουν επίσης λάβει χώρα διάφορες εφαρμογές για την αντιμετώπισή της, όπως π.χ. η δακτυλίωση στους βλαστούς (Vemmos, 2005), οι διαφυλλικοί ψεκασμοί με κυτοκινίνες και άζωτο (Lovatt *et al.*, 2006), οι ψεκασμοί με πολυαμίνες (polyamines, PAs) (Khezri *et al.*, 2010) και ο συνδυασμός δακτυλίωσης και ψεκασμού με

ουρία με ψεκάσμο 6-Benzyl-adenine (κυτοκινίνη) (Talaie *et al.*, 2006), αλλά καμία δεν έχει αποδώσει το επιθυμητό αποτέλεσμα.

Χρονικά, η οφθαλμόπτωση λαμβάνει χώρα εντός του καλοκαιριού, και πιο συγκεκριμένα την περίοδο της ταχείας πλήρωσης του ενδοκαρπίου. Αυτό συμβαίνει διότι η ένταση απορρόφησης θρεπτικών συστατικών από τον καρπό αυξάνεται όταν το έμβρυο αρχίζει να αναπτύσσεται (Baninasab *et al.*, 2007), ενώ ο ανταγωνισμός μεταξύ οφθαλμών και καρπών για θρεπτικά στοιχεία γίνεται μεγαλύτερος κατά την περίοδο «γεμίσματος» του καρπού (Amirigi, 2009). Αυτή η περίοδος μπορεί να διαφέρει από ποικιλία σε ποικιλία και σχετίζεται με το πρώιμο ή το όψιμο της ποικιλίας. Κατά την περίοδο αυτή παρατηρείται αυξημένος ρυθμός αναπνοής στους οφθαλμούς των δένδρων σε καρποφορία που πρόκειται να πέσουν σε σύγκριση με τους οφθαλμούς των δένδρων σε ακαρπία (Vemmos *et al.*, 1994) και μια σημαντική μείωση στη συγκέντρωση του αζώτου στα φύλλα (Durzan, 1996), όπως και στη συγκέντρωση των πολυαμινών (Roussos *et al.*, 2004). Η μείωση της συγκέντρωσης των πολυαμινών στους οφθαλμούς κάτω από μια συγκεκριμένη τιμή (κατώφλι) μπορεί να επάγει το φυσιολογικό μηχανισμό της απόπτωσης στους οφθαλμούς με αποτέλεσμα την οφθαλμόπτωση.

Έχει βρεθεί ότι τα N, P, K και το άμυλο, που αποτελεί τον κύριο αποθηκευτικό υδατάνθρακα, αυξάνονται στους μη καρποφορούντες βραχίονες μεταξύ Μαΐου και Σεπτεμβρίου, δηλαδή θεωρείται πως τη χρονιά της ακαρπίας το δένδρο συγκεντρώνει θρεπτικά υλικά για να στηρίξει την παραγωγή της επόμενης χρονιάς (Vemmos, 2005). Αυτό ενισχύεται από το γεγονός ότι η περιεκτικότητα των φύλλων σε θρεπτικά στοιχεία είναι σημαντικά μικρότερη σε έτος καρποφορίας παρά σε έτος ακαρπίας (Rosecrance *et al.*, 1998) και από το ότι νωρίς κατά την περίοδο καρποφορίας η συγκέντρωση του αζώτου στους οφθαλμούς των καρποφορούντων βλαστών είναι μεγαλύτερη (Baninasab *et al.*, 2007). Τέλος, μελέτες έχουν δείξει ότι υπεύθυνη για την οφθαλμόπτωση είναι η αδυναμία των ανθοφόρων οφθαλμών να ανταγωνιστούν τους αναπτυσσόμενους καρπούς στη ζήτηση για θρεπτικά συστατικά (Crane and Iwakiri, 1987).

Επίσης, η συγκέντρωση των πολυαμινών των καρποφορούντων βραχιόνων είναι χαμηλότερη σε σχέση με τους μη καρποφορούντες. Η συγκέντρωση των πολυαμινών στα όργανα (οφθαλμοί, φύλλα, βλαστοί) στους καρποφορούντες βραχίονες μειώνεται σημαντικά κατά τη διάρκεια της οφθαλμόπτωσης. Η μείωση αυτή μπορεί να οδηγήσει σε παραγωγή ABA ή/και αιθυλενίου με αποτέλεσμα την πρόκληση οφθαλμόπτωσης. Παρόλα αυτά και αυτό το ενδεχόμενο αμφισβητείται καθώς ούτε το ενδογενώς παραγόμενο αιθυλένιο ούτε το ενδογενώς παραγόμενο ABA έχουν βρεθεί να μπορούν να προκαλέσουν οφθαλμόπτωση (Roussos *et al.*, 2004).

Η εφαρμογή θρεπτικών συστατικών (κυρίως αζώτου), εξωγενώς, έχει σημαντική επίδραση στο θρεπτικό περιεχόμενο των φύλλων και των καρπών. Το πρωτεϊνικό περιεχόμενο των φύλλων εξαρτάται από την καρποφορία του τρέχοντος αλλά και των προηγούμενων χρόνων. Αυτό σημαίνει ότι χαμηλή καρποφορία το ένα έτος συνεπάγεται αυξημένη ποσότητα πρωτεϊνών διαθέσιμων για την καρποφορία του επόμενου έτους που συνήθως εμφανίζει υψηλή παραγωγή. Αυτό συμβαίνει διότι ύπαρξη επαρκούς αζώτου οδηγεί σε οψιμότερη άνθιση και μειωμένη οφθαλμόπτωση (Amirigi, 2009). Δεδομένου ότι το άζωτο αλλά και τα άλλα θρεπτικά στοιχεία πρέπει να διατηρούνται πάνω από ένα κατώφλι

συγκέντρωσης για να παραμείνουν οι οφθαλμοί στο δένδρο, η λίπανση του εδάφους για την κάλυψη των ελλείψεων που δημιουργούνται (εξαιτίας της μεταφοράς θρεπτικών στοιχείων προς τους καρπούς) θα έπρεπε να λύνει το πρόβλημα της οφθαλμόπτωσης. Ωστόσο, αυτή η τεχνική δεν είναι πετυχημένη και το αφοριστικό αυτό φαινόμενο εξελίσσεται κανονικά (Rosecrance *et al.*, 1998; Wolpert and Ferguson, 1990).

Η υπόθεση αποκλειστικής ευθύνης της ανεπάρκειας θρεπτικών στοιχείων και του ανταγωνισμού μεταξύ των αναπτυσσόμενων καρπών και των οφθαλμών στο μηχανισμό της οφθαλμόπτωσης τίθεται υπό αμφισβήτηση (Wolpert and Ferguson, 1990) και αναδεικνύεται το ενδεχόμενο υπαιτιότητας κάποιου ορμονικού παράγοντα (Vemmos *et al.*, 1994). Έχει εξεταστεί ο ρόλος του αψισικού οξέος (ABA), των αυξινών (Pontikis, 1990), του αιθυλενίου (Vemmos *et al.*, 1994), των γιββερελλινών και της κυτοκίνης (Lovatt *et al.*, 2005), χωρίς όμως να έχει εξαχθεί κάποιο ειδικότερο συμπέρασμα, πλην του ότι οι αυξίνες ίσως έχουν το ρόλο σήματος χωρίς να είναι το αίτιο της οφθαλμόπτωσης (Pontikis, 1990).

Για το χρονικό προσδιορισμό του σήματος της οφθαλμόπτωσης στη φυστική πραγματοποιούνται τεχνητές καρποπτώσεις (επεμβάσεις) σε βραχίονες ανά τακτά χρονικά διαστήματα και ύστερα εκτιμάται αν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές στα ποσοστά οφθαλμόπτωσης μεταξύ των επεμβάσεων. Για το έτος 2008, χρονιά εκτέλεσης του δενδροκομικού πειράματος, προσδιορίστηκε το χρονικό διάστημα επαγωγής ή/και μετακίνησης του φυσιολογικού σήματος της οφθαλμόπτωσης περί τα μέσα Ιουνίου (αποτελέσματα παρουσιάστηκαν στην πτυχιακή εργασία, Τσαφούρος κ.σ., 2009), οπότε και έγινε λήψη του φυτικού υλικού για τις μοριακές αναλύσεις.

### 1.5 Η βελτίωση της φυστικιάς

Οι υπάρχουσες ποικιλίες φυστικιάς χαρακτηρίζονται από έλλειψη επιθυμητών χαρακτηριστικών όπως το μειωμένο ποσοστό κούφιων καρπών και τη μειωμένη ένταση παρενιαυτοφορίας του δένδρου. Η βελτίωση αυτών των χαρακτηριστικών θα αυξήσει την παραγωγή τόσο ποσοτικά όσο και ποιοτικά. Τα τελευταία χρόνια έχουν λάβει χώρα οργανωμένες προσπάθειες για τη βελτίωση της φυστικιάς σε διάφορες χώρες, όπως για παράδειγμα τις Η.Π.Α. (Καλιφόρνια), την Τουρκία, την Ισπανία (Hormaza & Wunsch, 2011) και το Ισραήλ (Parfitt *et al.*, 2012).

Το βελτιωτικό πρόγραμμα φυστικιάς στην Καλιφόρνια ήταν συμβατικό (με χρήση κλασικών μεθόδων βελτίωσης). Σε αυτό χρησιμοποιήθηκαν διασταυρώσεις σε όλους τους δυνατούς συνδυασμούς μεταξύ 30 θηλυκών και 45 αρσενικών γονοτύπων, ενώ χρησιμοποιήθηκε και γενετικό υλικό από Ιρανικές και Ιταλικές συλλογές καθώς επίσης και υλικό από παλαιότερα βελτιωτικά προγράμματα. Από αυτό το πρόγραμμα προέκυψαν το 2005 δύο νέες ποικιλίες φυστικιάς, ήτοι η Golden Hills και η Lost Hills. Ταυτόχρονα με την αξιολόγηση και δημιουργία των νέων αυτών ποικιλιών, αξιολογήθηκε και μια σειρά από ποικιλίες που χρησιμοποιούνται ως πηγές γύρης (αρσενικές ποικιλίες). Στα πλαίσια αυτά πραγματοποιήθηκε αξιολόγηση της ποιότητας της παραγόμενης γύρης, ο χρόνος απελευθέρωσής της, η ζωτικότητα της και ο χρόνος διατήρησης της υψηλής ζωτικότητας αυτής (durability). Από αυτές τις αξιολογήσεις προέκυψε η αρσενική ποικιλία Randy, η οποία ανθίζει πριν την περίοδο άνθισης της Peters (κύρια ποικιλία επικονιαστής στις ΗΠΑ). Προγράμματα επιλογής έχουν πραγματοποιηθεί παλαιότερα και σε άλλες χώρες όπως η

Ελλάδα και Αυστραλία από τα οποία προέκυψαν οι ποικιλίες Pontikis και Siroga, αντίστοιχα. Στην Ισπανία 31 ελεγχόμενες διασταυρώσεις μεταξύ 10 θηλυκών και 12 αρσενικών γονέων και επιλογή μεταξύ 2000 σποροφύτων απέδωσε 9 θηλυκές επιλογές και 7 αρσενικές (Parfitt *et al.*, 2012).

Όπως και στα υπόλοιπα δενδροκομικά είδη, έτσι και στη φιστικιά οι παραδοσιακές μέθοδοι βελτίωσης είναι χρονοβόρες διότι αφενός το δένδρο διέρχεται μια περίοδο νεανικότητας (έξι έως οχτώ ετών) και αφετέρου βασίζονται στην κλασική επιλογή (Parfitt *et al.*, 2012). Έτσι, πολλές από τις επιλογές των παραπάνω προσπαθειών βρίσκονται ακόμη στις πειραματικές συλλογές και υπό αξιολόγηση (Hormaza & Wunsch, 2011).

Εξαιτίας του τρόπου επικονίασης, η φιστικιά (ως πληθυσμός) είναι εξαιρετικά ετερογενής. Οι στρατηγικές βελτίωσης εκμεταλλεύονται αυτή τη γενετική παραλλακτικότητα σε οπωρώνες από σπορόφυτα που έχουν προέλθει από ελεγχόμενη επικονίαση. Έτσι, από τα σπορόφυτα που παράγονται μετά την ελεγχόμενη επικονίαση επιλέγονται αυτά που συνδυάζουν κάποια επιθυμητά χαρακτηριστικά και αξιολογούνται εκ νέου για τα χαρακτηριστικά αυτά. Στο τέλος των αξιολογήσεων πιθανώς να προκύψει/ουν η/οι νέα/ες ποικιλία/ες. Οι ποικιλίες πολλαπλασιάζονται αγενώς με εμβολιασμό, ενώ ο βλαστικός πολλαπλασιασμός παρουσιάζει δυσκολία. Αν πρόκειται να χρησιμοποιηθούν ως υποκείμενα, ο πολλαπλασιασμός γίνεται εγγενώς με την παραγωγή σποροφύτων (αφού ο βλαστικός πολλαπλασιασμός υστερεί) (Onay *et al.*, 2004).

Μία εναλλακτική στρατηγική μαζικής επιλογής όπου μόνο δύο ή λίγοι γονείς πρόκειται να χρησιμοποιηθούν συνίσταται στην εγκατάσταση δενδρώνα με επιλεγμένα θηλυκά και αρσενικά δένδρα ή την εγκατάσταση αποκλειστικά επιλεγμένων θηλυκών με τη γύρη να διασκορπίζεται μηχανικά. Ο παραγόμενος σπόρος συγκομίζεται, φυτεύεται και αξιολογούνται τα σπορόφυτα. Αυτή η προσέγγιση στα αρχικά στάδια παραγωγής του σπόρου είναι περισσότερο αποτελεσματική αναφορικά με την απαιτούμενη εργασία και το κόστος της μεθόδου. Ωστόσο, η μέθοδος υστερεί στη διαδικασία αξιολόγησης, η οποία αποτελεί το πιο ακριβό στάδιο, καθώς δεν είναι αποτελεσματική όπως το γενεαλογικό πρόγραμμα για τη μεγιστοποίηση της αθροιστικής γενετικής διασποράς. Για την επιτάχυνση της διαδικασίας - και αν υπάρχει δυνατότητα- μπορεί να γίνει εμβολιασμός σε υποκείμενα στο χωράφι. Με αυτόν τον τρόπο μπορούν να παραχθούν φυτά τα οποία μπορούν να αναπτυχθούν και να καρποφορήσουν σε συντομότερο χρονικό διάστημα (μείωση του χρόνου του βελτιωτικού προγράμματος) αλλά ταυτόχρονα επιτυγχάνεται και η αξιολόγηση της συμβατότητας εμβολίου-υποκειμένου σε νεαρό στάδιο (Parfitt *et al.*, 2012).

Σε όλα τα βελτιωτικά προγράμματα θα πρέπει να περιλαμβάνονται πειράματα επιλογής βασισμένα στο λόγο απόδοση/αγρονομική συμπεριφορά (yield/performance), χρησιμοποιώντας συνθήκες εμπορικής παραγωγής με κλωνικά πολλαπλασιασμένα φυτά επί υποκειμένων.

Τα συνήθη προς βελτίωση χαρακτηριστικά της φιστικιάς είναι:

- Αύξηση του ποσοστού των ανοιχτών καρπών.
- Μείωση του ποσοστού των κενών καρπών.
- Αύξηση της απόδοσης μέσω της ελάττωσης της οφθαλμόπτωσης που οδηγεί στην παρενιαυτοφορία.
- Βελτίωση της επιτυχίας πολλαπλασιασμού από βλαστικά μέρη.

- Αύξηση του μεγέθους του καρπού, της ποιότητας και της εμφάνισής του.
- Ελάττωση του ποσοστού ανεπιθύμητων καρπών.
- Όψιμη ανθοφορία.
- Ανθεκτικότητα σε βιοτικούς και αβιοτικούς παράγοντες (ασθένειες π.χ. *Verticillium* sp, *Armillaria mellea*, νηματώδεις, αλατότητα κ.λπ.) (Hormaza & Wunsch, 2011).
- Τρόπος ανάπτυξης.
- Βελτίωση χαρακτηριστικών σχετικών με τη συμπεριφορά του φυτού στο φυτώριο (Onay *et al.*, 2004).

Οι περισσότερες ποικιλίες (αρσενικές και θηλυκές) εμβολιάζονται σε υποκείμενα ανθεκτικά σε ασθένειες εδάφους. Οι καρποί της φιστικιάς κατατάσσονται σύμφωνα με τα χαρακτηριστικά του καρπού π.χ. μέγεθος, χρώμα κ.λπ. Επιπρόσθετα, τα δένδρα επιλέγονται για την παραγωγή γύρης, το χρόνο άνθισης, την ποιότητα και την ομοιομορφία της παραγωγής. Οι κύριοι στόχοι βελτίωσης στη φιστικιά περιλαμβάνουν τη ζωηρότητα, τις συνήθειες ανάπτυξης και το ύψος της ωριμότητας σε συνδυασμό με τα υπόλοιπα χαρακτηριστικά π.χ. σχήμα δένδρου για μηχανική παραγωγή (Onay *et al.*, 2004).

Τα προγράμματα βελτίωσης της φιστικιάς άρχισαν να αναπτύσσουν νέες ποικιλίες και υποκείμενα φιστικιάς μόλις πρόσφατα, με την Lost Hills, την Gold Hills και την Randy (ποικιλία επικονιαστής) να αποτελούν χαρακτηριστικά παραδείγματα (Onay *et al.*, 2004; Kallsen *et al.*, 2009). Νέα υποκείμενα αποτελούν τα Pioneer Gold I (*P. intererrima*), Pioneer Gold II [*P. atlantica* (θηλυκός γονέας) x *P. integerrima* (αρσενικός γονέας)] και UCBI, το οποίο αποτελεί υβρίδιο των *P. atlantica* (θηλυκός γονέας) και *P. integerrima* (αρσενικός γονέας) (Parfitt *et al.*, 2012).

Οι περισσότερες γενετικές πληροφορίες που έχουν βρεθεί στη φιστικιά, έχουν προέλθει από ποιοτική και ποσοτική ανάλυση. Τα μόνα απλά κληρονομούμενα χαρακτηριστικά που έχουν περιγραφεί μέχρι τώρα αφορούν: α) το γονίδιο του νανισμού που παράγει νάνο απόγονο σε αναλογία 1:3 ύστερα από τη διασταύρωση *P. chinensis* x *P. integerrima* και β) η έκφραση του φύλου, το οποίο παρουσιάζεται με αναλογία 1:1. Φαίνεται πως το γονίδιο του νανισμού είναι υπολειπόμενο, το προϊόν του οποίου δρα διακόπτοντας το μονοπάτι βιοσύνθεσης της γιββερελλίνης. Η έκφραση του φύλου φαίνεται να ρυθμίζεται από ένα κυρίαρχο γονίδιο σε ετερόζυγη κατάσταση στο ένα από τα δύο φύλα και σε υπολειπόμενη κατάσταση στο άλλο. Ωστόσο, μπορεί να υπάρχουν και εξαιρέσεις όπου μπορεί να υπάρξει μονοικία σε ένα, κατά τα άλλα, δίοικο φυτό. Ο χρόνος άνθισης και έκπτυξης των φύλλων είναι χαρακτηριστικά υψηλού συντελεστή κληρονομικότητας και συσχετίζονται. Αυτό υποδηλώνει πως επιλογή για πρώιμη ή όψιμη άνθιση θα μπορούσε να επιλεγεί στο στάδιο του σποροφύτου με βάση το χρόνο έκπτυξης των φύλλων, γεγονός που επιταχύνει την επιλογή στο βελτιωτικό πρόγραμμα. Υψηλό συντελεστή κληρονομικότητας παρουσιάζει επίσης και η ανθεκτικότητα στον *Alternaria alternata*. Χαρακτηριστικά όπως το βάρος, το ποσοστό ανοικτών καρπών και η ζωηρότητα έχουν χαμηλή με μέτρια κληρονομικότητα (Parfitt *et al.*, 2012).

Τα σπορόφυτα της φιστικιάς χαρακτηρίζονται από μία περίοδο νεανικότητας από πέντε έως οκτώ ετών μέχρι να εισέλθουν σε παραγωγή, ενώ τα σπορόφυτα και των δύο φύλων είναι φαινοτυπικά μη διακριτά σε αυτό το αναπτυξιακό στάδιο. Η χρήση μοριακών μεθόδων



(μοριακοί δείκτες) μπορεί να εφαρμοστεί για τον εντοπισμό του φύλου του δένδρου σε πρώιμο στάδιο. Μοριακοί δείκτες έχουν χρησιμοποιηθεί επίσης για την εξακρίβωση των γενετικών σχέσεων μεταξύ των ποικιλιών και για τους ανωτέρω λόγους επιταχύνουν τα βελτιωτικά προγράμματα. Από τις μελέτες με μοριακούς δείκτες βρέθηκε πως ο φυλετικός καθορισμός στα είδη του γένους *Pistacia* είναι περιορισμένος σε μια μικρή περιοχή του γονιδιώματος αποτελούμενη από ένα ή λίγα γονίδια περιβαλλόμενα από επαναλαμβανόμενες αλληλουχίες. Αν και υπάρχει κάποια γνώση της γενετικής ποικιλομορφίας, μέσω των μοριακών δεικτών, θα πρέπει να κατασκευαστούν γενετικοί χάρτες, ενώ περισσότερα γονίδια θα πρέπει να σημειωθούν για να διεξαχθεί επιλογή επιβοηθούμενη από δείκτες (Hormaza και Wunsch, 2011). Η έλλειψη γενετικών χαρτών υψηλής ανάλυσης δυσχεραίνει την επιβοηθούμενη επιλογή (marker assisted selection, MAS) με δείκτες στη φιστικιά (Hormaza και Wunsch, 2011; Parfitt *et al.*, 2012). Ωστόσο, η διαθεσιμότητα των γενετικών χαρτών θα επιτρέψει την ταυτοποίηση γονιδιακών τόπων ποσοτικών χαρακτήρων (quantitative trait loci, QTLs) και την επιλογή γονιδιωμάτων (Hormaza & Wunsch, 2011). Στη διευκόλυνση της επιβοηθούμενης επιλογής με δείκτες για τη φιστικιά μπορούν να συμβάλουν και οι νέες μέθοδοι αλληλούχησης (NGS) με το μεγάλο αριθμό μοριακών δεικτών που δύνανται να ανιχνεύσουν (Varshney *et al.*, 2009), όπως του πολυμορφισμού ενός νουκλεοτιδίου (single nucleotide polymorphism, SNPs).

Εκτός από τους μοριακούς δείκτες, τα τελευταία χρόνια έχει υπάρξει πρόοδος στην ανάπτυξη των βιοτεχνολογικών μεθόδων οι οποίες μπορούν να χρησιμοποιηθούν στη βελτίωση του είδους. Στη φιστικιά έχουν αναπτυχθεί πρωτόκολλα σωματικής εμβρυογένεσης από το ενδοσπέρμιο, τις κοτυληδόνες και ιστούς φύλλων ως έκφυτα σε φάση νεανικότητας. Έχει επίσης επιτευχθεί οργανογένεση από ζυγωτικά έμβρυα και κοτυληδόνες (Onay *et al.*, 2004) και μικροπολλαπλασιασμός από βλαστούς σποροφύτων (Parfitt *et al.*, 2012). Ωστόσο δεν έχει γίνει ακόμη κατορθωτός ο γενετικός μετασχηματισμός της φιστικιάς αν και σωματική εμβρυογένεση έχει επιτευχθεί (Onay *et al.*, 2004).

Η εφαρμογή της κλασσικής βελτίωσης έχει περιορισμένη επιτυχία εξαιτίας της ετεροζυγωτίας που χαρακτηρίζει αυτό το είδος λόγω του υψηλού ποσοστού σταυρογονιμοποίησης. Η ολοκλήρωση του γενετικού μετασχηματισμού θα ξεπεράσει ορισμένους από τους περιορισμούς των συμβατικών μεθόδων (Onay *et al.*, 2004) και θα αποτελέσει ένα σημαντικό πλεονέκτημα στα βελτιωτικά προγράμματα της φιστικιάς (Hormaza & Wunsch, 2011).

#### 1.6 Λειτουργική γονιδιωματική

Η λειτουργική γονιδιωματική αποτελεί μια γενική προσέγγιση κατανόησης της συνεργασίας και λειτουργίας των γονιδίων σε έναν οργανισμό ανακαλύπτοντας νέες λειτουργίες αγνώστων γονιδίων. Πληροφορίες για την υποτιθέμενη λειτουργία του άγνωστου γονιδίου μπορούν να ληφθούν από την αλληλουχία του συγκρίνοντάς τη με λειτουργίες άλλων γνωστών γονιδίων με παρόμοια αλληλουχία (Holtorf *et al.*, 2002). Ωστόσο, για να καθοριστεί η ακριβής λειτουργία κάποιου άγνωστου γονιδίου θα πρέπει να κατανοηθεί ο ρόλος κάθε γονιδίου στο σύνολο των δραστηριοτήτων των γονιδίων μέσα στο φυτικό κύτταρο. Οι πιο σημαντικές πληροφορίες για τις αλλαγές στη γονιδιακή έκφραση αποκτάται από την ανάλυση του mRNA, των πρωτεϊνών και των μεταβολιτών. Οι τεχνολογίες που

αναπτύχθηκαν για τη μελέτη αυτών δημιούργησαν νέα πεδία έρευνας όπως η μεταγραφομική (transcriptomics), η πρωτεομική (proteomics), η μεταβολομική (metabolomics) και η φαινομική (phenomics).

Η πιο δυναμική και ευέλικτη τεχνική για χρήση στη λειτουργική γονιδιωματική είναι οι μικροσυστοιχίες (Holtorf *et al.*, 2002) και άλλες μέθοδοι που χρησιμοποιούν στερεό υπόστρωμα (chip) π.χ. DNA chips και οι γενικά υψηλού όγκου εργασίας (high-throughput) μέθοδοι (Bouchez & Hofte, 1998). Όμως, εξαιτίας της έλλειψης δεδομένων (αλληλουχίες γονιδίων) για την πλειοψηφία των φυτών είναι δύσκολη η χρήση των μικροσυστοιχιών για τη μεταγραφομική ανάλυση (transcriptome analysis). Για αυτό το λόγο κρίνεται απαραίτητη η ανάπτυξη συλλογών ESTs ή συλλογών cDNA (Goossens *et al.*, 2003). Μια τεχνική η οποία μπορεί να δώσει τέτοιου είδους πληροφορίες είναι η Serial Analysis of Gene Expression (SAGE) και άλλες παρόμοιες τεχνικές (π.χ. Suppression Subtractive Hybridization, SSH). Οι βάσεις δεδομένων των ESTs αποτελούν πηγή εύρεσης γονιδίων για διαειδική σύγκριση μεταξύ αλληλουχιών και μπορούν να δώσουν δείκτες για γενετικούς και φυσικούς χάρτες και κλώνους για αναλύσεις της γονιδιακής έκφρασης (Bouchez & Hofte, 1998). Ωστόσο, μεγάλο ποσοστό των ταυτοποιημένων γονιδίων φαίνεται να έχουν λειτουργικές ομοιότητες με προηγούμενα ευρεθέντα γονίδια. Έτσι, μαζί με τις βιοπληροφοριακές αναλύσεις, οι οποίες είναι και περιορισμένης εμπιστοσύνης, απαιτείται και πειραματική επιβεβαίωση για τη διαλεύκανση των λειτουργιών των γονιδίων (Bouchez & Hofte, 1998).

Για την εύρεση πληροφοριών σχετικά με τη λειτουργία κάποιου γονιδίου, το οποίο έχει αλληλουχηθεί, μπορούν να χρησιμοποιηθούν τεχνικές πρόσθιας γενετικής (forward genetics) και αντίστροφης γενετικής (reverse genetics) (Bouchez & Hofte, 1998) καθώς επίσης και τεχνικές γονιδιακής σιώπησης (Holtorf *et al.*, 2002). Η πρόσθια γενετική συνίσταται στην απομόνωση και ταυτοποίηση κάποιου γονιδίου ή γονιδίων ύστερα από κάποια επέμβαση (π.χ. έκθεση σε κάποιο χημικό παράγοντα). Η αντίστροφη γενετική ανιχνεύει τη λειτουργία του γονιδίου-στόχου φαινοτυπικά, δηλαδή αφού πρώτα προκληθεί απώλεια λειτουργίας του γονιδίου υπό μελέτη με παρεμβατική μεταλλαξιογένεση. Αυτή μπορεί να γίνει με χρήση μεταθετών στοιχείων (transposons) ή ξένου DNA (T-DNA) με τελικό αποτέλεσμα τη διακοπή της συνέχειας του γονιδίου στόχου. Άλλος ένας τρόπος αντίστροφης γενετικής είναι με τη τεχνική του ομόλογου ανασυνδυασμού όπου αφαιρείται ένα μεγάλο τμήμα ή και ολόκληρο το γονίδιο στόχος το οποίο αντικαθίσταται από κάποια άλλη αλληλουχία (Bouchez & Hofte, 1998). Στην περίπτωση της γονιδιακής σιώπησης χρησιμοποιούνται μια σειρά τεχνικές, όπως για παράδειγμα η ιο-επαγόμενη γονιδιακή σιώπηση (Virus Induced Gene Silencing, VIGS), η χρήση δίκλωνου RNA (dsRNA) ή σιώπηση του γονιδίου στόχου οφειλόμενης στην υπερέκφραση του ομόλογου διαγονιδίου. Έτσι δεν παράγεται ο αναμενόμενος φαινότυπος με αποτέλεσμα να μπορεί να γίνει εκτίμηση της λειτουργίας του γονιδίου ενδιαφέροντος (Holtorf *et al.*, 2002).

### 1.7 Διαφορικά εκφραζόμενα γονίδια και Κατασταλτικός Αφαιρετικός Υβριδισμός (K.A.Y.)

Στους οργανισμούς ορισμένες διαδικασίες όπως η κυτταρική αύξηση και η οργανογένεση ρυθμίζεται από την προγραμματισμένη έκφραση συγκεκριμένων γονιδίων σε συγκεκριμένο χρόνο. Το 15% των γονιδίων στους ανώτερους ευκαρυωτικούς οργανισμούς δηλαδή περίπου 15,000 mRNAs μεταξύ 100,000 γονιδίων θεωρείται ότι εκφράζονται μόνο σε

συγκεκριμένα φυσιολογικά αναπτυξιακά στάδια. Όταν υπάρξει κάποια αλλαγή στην έκφραση αυτών των γονιδίων τότε αλλάζει και το τελικό αποτέλεσμα της έκφρασης αυτών (Huang *et al.*, 2007).

Η ταυτοποίηση των διαφορεικά εκφραζόμενων γονιδίων μπορεί να οδηγήσει σε βαθύτερη γνώση των μοριακών μηχανισμών που διέπουν ορισμένα φυσιολογικά, και όχι μόνο, φαινόμενα. Με τον όρο διαφορεικά εκφραζόμενα γονίδια εννοούμε γονίδια τα οποία εμφανίζονται ως μεταγραφήματα σε έναν πληθυσμό mRNA σε συγκεκριμένη χρονική στιγμή ή κάτω από συγκεκριμένες περιβαλλοντικές συνθήκες, ενώ απουσιάζουν ή βρίσκονται σε χαμηλά επίπεδα σε έναν άλλο πληθυσμό mRNA, γεγονός που υποδεικνύει ότι τα αντίστοιχα γονίδια είτε δεν εκφράζονται είτε εκφράζονται σε μειωμένο βαθμό. Γενικές πληροφορίες για τις μεθόδους αναγνώρισης διαφορεικά εκφραζόμενων γονιδίων θα μπορούσε κανείς να βρει στην πτυχιακή εργασία μου (Τσαφούρος, 2010).

Ο αφαιρετικός υβριδισμός αναπτύχθηκε ως μια μέθοδος που είχε ως σκοπό τον εμπλουτισμό των διαφορεικά εκφραζόμενων γονιδίων. Αυτή η μέθοδος χρησιμοποιήθηκε για πρώτη φορά στα μέσα του 1960 από τους Bautz και Reilly για να απομονώσουν καθαρό το mRNA του βακτηριοφάγου T4 από όλα τα άλλα μεταγραφήματα. Ωστόσο, εκείνη η μέθοδος είχε δύο μειονεκτήματα. Πρώτον, απαιτούσε μεγάλη ποσότητα mRNA και δεύτερον τη δυσκολία κλωνοποίησης των μικρών ποσοτήτων cDNA που περίσσευαν μετά τον αφαιρετικό υβριδισμό. Έπειτα, οι Duguid και Dinauer χρησιμοποίησαν προσαρμοστές (adaptors) στο cDNA κάνοντας δυνατή την επιλεκτική ενίσχυση μέσω της PCR. Οι Diatchenko *et al.* το 1996 χρησιμοποιώντας, για πρώτη φορά, την κατασταλτική PCR εισήγαγαν τον κατασταλτικό αφαιρετικό υβριδισμό, στον οποίο η παρουσία διαφορεικά εκφραζόμενων γονιδίων ομαλοποιείται και τα γονίδια αυτά εμπλουτίζονται πάρα πολλές φορές (Ji *et al.*, 2002).

Ο κατασταλτικός αφαιρετικός υβριδισμός (K.A.Y.) είναι μια μέθοδος που επιτρέπει τη σύγκριση δύο πληθυσμών mRNA και επιτυγχάνει κλώνους γονιδίων που εκφράζονται στον ένα πληθυσμό και όχι στον άλλο (Anonymous 1, 2008) ακόμα και όταν δεν υπάρχει προηγούμενη γνώση για αυτά (Xuxia *et al.*, 2011). Ο K.A.Y. βασίζεται στη μετατροπή των mRNA και των δύο πληθυσμών σε cDNA. Έπειτα οι δύο πληθυσμοί του cDNA, όπου ο ένας λειτουργεί ως δοκιμαστής (tester) και ο άλλος ως οδηγός (driver), υβριδίζονται. Τα τμήματα που έχουν υβριδοποιηθεί αποτελούν τις κοινές αλληλουχίες και για τους δύο πληθυσμούς και απομακρύνονται. Έτσι απομένουν τα μη κοινά μεταγραφήματα, δηλαδή οι αλληλουχίες που υπάρχουν στο δοκιμαστή και δεν υπάρχουν στον οδηγό και επομένως αντιστοιχούν στα διαφορεικά εκφραζόμενα γονίδια.

Μέχρι τώρα αυτή η τεχνική έχει χρησιμοποιηθεί μόνη της ή σε συνδυασμό με άλλες, για την εύρεση διαφορεικά εκφραζόμενων γονιδίων σε διάφορους οργανισμούς, ευκαρυωτικούς ή προκαρυωτικούς, φυτικούς, ζωικούς ή μικροβιακούς. Για παράδειγμα, έχει εφαρμοστεί σε κοτόπουλα σε συνδυασμό με ανάλυση μικροσυστοιχιών για την εξέταση της διαφορεικής έκφρασης γονιδίων σε προσβεβλημένα από ιούς κύτταρα (Munir *et al.*, 2004), σε βακτήρια για την ταυτοποίηση ειδοειδικών αλληλουχιών (Agron *et al.*, 2002), στην εύρεση διαφορεικά εκφραζόμενων γονιδίων σε κοινά και αιματόσαρκα πορτοκάλια (Licciardello and Russo, 2007), σε φυτά για την ταυτοποίηση έκφρασης γονιδίων που σχετίζονται με την αλατότητα (Guan *et al.*, 2010) κ.ά.. Έχει χρησιμοποιηθεί επίσης, για την εύρεση διαφορεικά

εκφραζόμενων γονιδίων από αρκετά ακόμα φυτά όπως π.χ. αραβόστος (Shi *et al.*, 2005), σιτάρι (Yao and Ni, 2005) κ.ά.

Ο Κ.Α.Υ. παρουσιάζει δύο μειονέκτηματα, τα οποία είναι η απομόνωση λανθασμένα θετικών κλώνων (Agron *et al.*, 2002) και η μη ολοκληρωμένη (πλήρους μήκους) αναπαράσταση των γονιδίων κατά τη δημιουργία της βιβλιοθήκης (Tavares και Adashi, 2002). Η μη σημαντική διαφορά στη γονιδιακή έκφραση μεταξύ των δύο αυτών δειγμάτων μπορεί να παράξει «λανθασμένα θετικούς κλώνους». Για αυξημένη επιτυχία απομόνωσης της αλληλουχίας στόχου θα πρέπει ο λόγος της γονιδιακής έκφρασης οδηγού και δοκιμαστή να είναι υψηλός (Huang *et al.*, 2007). Για την αντιμετώπιση της απομόνωσης των λανθασμένα θετικών κλώνων αναπτύχθηκε από τον Rebrikov *et al.* (2000) η τεχνική της επιλογής κατεύθυνσης κατόπτρου (Mirror Orientation Selection, MOS).

### 1.8 Μέθοδοι αλληλούχησης

Οι τεχνικές αλληλούχησης του DNA αποτελούν σημαντικά εργαλεία σε πολλά επιστημονικά πεδία. Οι συγκεκριμένες τεχνικές χρησιμοποιούνται σε μεγάλο αριθμό επιστημών, από την αρχαιολογία και την ανθρωπολογία μέχρι τη βιοτεχνολογία και τη μοριακή βιολογία (Franca *et al.*, 2002).

Η πρώτη αναφορά για αλληλούχηση δημοσιεύτηκε το 1968 και αφορούσε την αλληλούχηση 10 διαδοχικών βάσεων (Nowrousian, 2010). Ωστόσο, με την ανάπτυξη της μεθόδου Sanger το 1977 επιτεύχθηκε αξιόπιστη και ικανοποιητικού μήκους αλληλούχηση βάσεων DNA (Franca *et al.*, 2002, Nowrousian, 2010). Έπειτα, ακολούθησε η μέθοδος των Maxam & Gilbert η οποία περιγράφηκε το ίδιο έτος και χρησιμοποιούταν σε περιπτώσεις όπου η μέθοδος Sanger δεν ήταν αποτελεσματική (Wilhelm *et. al.*, 2009), ενώ παρουσιάστηκε και η μέθοδος PPi, η οποία βασίζεται στην ανίχνευση του PPi που απελευθερώνεται κατά την επέκταση της νουκλεοτιδικής αλυσίδας από την πολυμεράση. Η τελευταία γενεά μεθόδων αλληλούχησης βασίζεται στην ανίχνευση μεμονομένων μορίων (single molecule detection) (Franca *et al.*, 2002).

Υπάρχουν τρεις γενιές τεχνολογιών αλληλούχησης (Casals *et al.*, 2012). Στην πρώτη γενιά ανήκουν η μέθοδος Sanger με τις παραλλαγές της [Shot-gun και αλληλούχηση μετακινούμενου εκκινητή (primer walking sequencing)] και η μέθοδος των Maxam & Gilbert με τις παραλλαγές της (Franca *et al.*, 2002, Nowrousian, 2010). Στη δεύτερη γενιά ή τεχνολογίες αλληλούχησης νέας γενιάς (Next Generation Sequencing, NGS) ανήκουν οι εμπορικά διαθέσιμες πλατφόρμες: 454 GenomeSequencer FLX (Roche Applied Science), Illumina (Solexa) Genome Analyser και οι αναβαθμισμένες εκδόσεις αυτών (Wilhelm *et. al.*, 2009). Οι μέθοδοι αλληλούχησης που ακολουθούνται για τις παραπάνω πλατφόρμες είναι οι: Πυροαλληλούχηση, η χρήση πολυμεράσης με αντιστρεπτούς τερματιστές (terminators) και η πρόσδεση σε οκταμερή αντίστοιχα. Τέλος, στην τρίτη γενιά υπάγονται η πλατφόρμα Helicos Single-Molecule Sequencing (Heliscope) (Nowrousian, 2010) και η πρόσφατα ανεπτυγμένη πλατφόρμα της Pacific Biosciences (Casals *et al.*, 2012).

#### *1.8.1 Η μέθοδος αλληλούχησης Sanger*

Η πρώτη μέθοδος που περιγράφηκε από το Sanger και τους συνεργάτες του το 1975 ονομαζόταν «συν και πλην» (plus and minus). Η μέθοδος αυτή χρησιμοποιούσε DNA

πολυμεράση I προερχόμενη από το *E. coli* και DNA πολυμεράση από το βακτηριοφάγο T4. Τα προϊόντα των πολυμερασών διαχωρίζονται σε πηκτή πολυακρυλαμίδης με ιονοφόρηση. Όμως, εξαιτίας της αναποτελεσματικότητάς της το 1977 δημιουργήθηκε η διδεοξυνουκλεοτιδική μέθοδος. Σε αυτή πραγματοποιείται μια ενζυματική αντίδραση η οποία πολυμερίζει τμήματα DNA συμπληρωματικά στο δείγμα του DNA που πρόκειται να αλληλουχηθεί. Ένας ραδιενεργά σημασμένος εκκινητής υβριδίζει σε μια συγκεκριμένη γνωστή περιοχή στο DNA στόχο, η οποία αποτελεί σημείο έναρξης της σύνθεσης της αλυσίδας DNA. Με την παρουσία της DNA πολυμεράσης πραγματοποιείται καταλυτικός πολυμερισμός των dNTP με αποτέλεσμα την παραγωγή αλυσίδας DNA. Ο πολυμερισμός συνεχίζεται μέχρι να εντοπιστεί από το ένζυμο ένα τροποποιημένο νουκλεοσίδιο το οποίο καλείται τερματικό (ddNTP). Η διαδικασία επιτελείται σε τέσσερις διαφορετικούς σωλήνες όπου ο καθένας περιέχει την κατάλληλη ποσότητα του κάθε ddNTP (ddATP, ddTTP, ddGTP, ddCTP). Όλα τα δημιουργούμενα τμήματα έχουν το ίδιο 5' άκρο ενώ το 3' άκρο καθορίζεται από το ddNTP. Αφού ολοκληρωθούν οι αντιδράσεις το μείγμα των τμημάτων (διαφορετικού μεγέθους) του DNA διαχωρίζεται με ηλεκτροφόρηση σε πηκτή πολυακρυλαμίδης σε τέσσερις παράλληλες διαδρομές (μια για κάθε ddNTP). Η παρουσία των ζωνών στην πηκτή δείχνει την αλληλουχία των βάσεων της άγνωστης αλυσίδας. Η ανάγνωση των ζωνών πραγματοποιείται με αυτοραδιογραφία.

#### *α) Η μέθοδος αλληλούχησης Maxam & Gilbert*

Σε αυτή τη μέθοδο τμήματα DNA σημασμένα στο άκρο υπόκεινται σε τυχαία πέψη στις θέσεις της αδερίνης, θυμίνης, γουανίνης και κυτοσίνης χρησιμοποιώντας ειδικούς χημικούς παράγοντες. Τα χημικά δρουν σε τρία βήματα: τροποποίηση της βάσης, απομάκρυνση της βάσης από το σάκχαρό της και σπάσιμο της αλυσίδας του DNA στη θέση του σακχάρου. Τα προϊόντα από αυτές τις τέσσερις αντιδράσεις διαχωρίζονται σε πηκτή πολυακρυλαμίδης ενώ η παραγόμενη αλληλουχία μπορεί εύκολα να διαβαστεί από τις τέσσερις διαδρομές στην πηκτή.

Το αρχικό υλικό που χρησιμοποιείται σε αυτή τη μέθοδο μπορεί να είναι είτε μονόκλωνο είτε δίκλωνο DNA και συνήθως υπόκεινται σε πέψη με κάποιο περιοριστικό ένζυμο για την παραγωγή τμημάτων DNA. Αυτά τα τμήματα σημαίνονται στο άκρο της αλυσίδας με  $^{32}\text{P}$  ή με κάποιο νουκλεοτίδιο το οποίο ενώνεται με το  $^{32}\text{P}$  και ενζυματικά ενσωματώνεται στο άκρο της αλυσίδας. Και αυτή η μέθοδος χρησιμοποιεί ραδιοϊσότοπα και επομένως, η αυτοραδιογραφία είναι απαραίτητη. Εκτός από τη χρήση ραδιοϊσοτόπων σήμανση μπορεί να γίνει με φθορίζουσες χρωστικές και με τη χρήση βιοτίνης. Και στις δύο περιπτώσεις, η χρώση παραμένει σταθερή κατά τις χημικές αντιδράσεις και δεν υποβαθμίζεται. Άλλη μια μέθοδος ανίχνευσης είναι αυτή της χημειοφθορίζουσας ανίχνευσης. Με αυτή τη στρατηγική, κομματιασμένο DNA ύστερα από χημική πέψη μεταφέρεται από την πηκτή αλληλούχησης σε νάιλον μεμβράνη. Έπειτα, επιλέγονται συγκεκριμένες αλληλουχίες από υβριδισμό με σημασμένα με βιοτίνη ή αλκαλική φωσφατάση ολιγονουκλεοτίδια, η μεμβράνη εμβαπτίζεται στο χημειοφθορίζον υπόστρωμα και ακολούθως εκτίθεται σε φωτογραφικό φιλμ.

Το σημαντικότερο σημείο στη μέθοδο Maxam & Gilbert είναι οι χημικές αντιδράσεις. Αυτές μπορούν να χωριστούν σε δύο διαφορετικές ομάδες: (i) μέθοδοι τεσσάρων διαδρομών

όπου χρησιμοποιούνται τέσσερις (ή περισσότερες) χωριστές διαδικασίες πέψων και οι πληροφορίες παρουσιάζονται σε τέσσερις (ή περισσότερες) παράλληλες διαδρομές και (ii) η μέθοδος μονής ή διπλής διαδρομής όπου όλες οι αντιδράσεις βασίζονται σε μια χημική τροποποίηση και η ηλεκτροφόρηση πραγματοποιείται σε μια ή δύο διαδρομές.

Τα πλεονεκτήματα της μεθόδου Maxam & Gilbert και των άλλων χημικών μεθόδων σε σύγκριση με τη μέθοδο Sanger είναι: (i) το τμήμα DNA μπορεί να αλληλουχηθεί από το πρωτότυπο τμήμα DNA αντί των αντιγράφων δημιουργημένων από ένζυμα (πολυμέρασες), (ii) δεν χρειάζεται να πραγματοποιηθεί αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (PCR), (iii) μικρότερο ποσοστό λαθών όσο αφορά την αλληλούχηση δευτερογενών δομών και λαθών προερχόμενα από τη δράση των ενζύμων και (iv) οι πειραματικές διαδικασίες για αυτού του είδους την αλληλούχηση θεωρούνται εύκολες.

Μέχρι τώρα οι μέθοδοι χημικής υποβάθμισης έχουν χρησιμοποιηθεί: (i) για αλληλούχηση γονιδιωμάτων, όπου μπορούν να αποκτηθούν πληροφορίες για τη μεθυλίωση του DNA και τη δομή της χρωματίνης, (ii) για την επιβεβαίωση της ακρίβειας των συνθετιμένων ολιγονουκλεοτιδίων ή για την ταυτοποίηση της αλληλουχίας των περιοχών του DNA εντός των βρόγχων της δομής φουρκέτας, (iii) στην εύρεση σημειακών μεταλλάξεων, (iv) στην ανάλυση αλληλεπιδράσεων DNA-πρωτεΐνης, (v) στην αλληλούχηση μικρών τμημάτων DNA. Με τη μέθοδο αυτή μπορούν να αλληλουχηθούν μήκη DNA μέχρι 500 bp. Τα μειονεκτήματα της μεθόδου είναι η επικινδυνότητα των αντιδραστηρίων και η χαμηλή ταχύτητα των χημικών αντιδράσεων και η ύπαρξη μη ολοκληρωμένων αντιδράσεων που μπορεί να οδηγήσει σε μειωμένου μήκους αλληλουχίες (Franca *et al.*, 2002).

#### β) Τεχνικές και πλατφόρμες αλληλούχησης 2<sup>ης</sup> γενιάς (Next Generation Sequencing, NGS)

Όλες οι εμπορικά διαθέσιμες τεχνολογίες 2<sup>ης</sup> γενιάς διαφέρουν από τη μέθοδο αλληλούχησης κατά Sanger στο ότι δεν απαιτείται κλωνοποίηση του DNA σε βακτηριακούς φορείς, οπότε αποφεύγονται προβλήματα όπως δυσκολίες κλωνοποίησης σε περιοχές πλούσιες σε A-T, γονίδια ή τμήματα γονιδίων τα οποία μπορεί να είναι τοξικά για το *E. coli*. Επίσης, απαιτείται εργασία μικρότερης έντασης (Nowrousian, 2010), ενώ δεν χρησιμοποιείται πηκτή για την ανάλυση των αποτελεσμάτων (Wilhelm *et. al*, 2009). Στις περισσότερες τεχνικές το δείγμα DNA κατακερματίζεται, συνδέεται με υπόστρωμα και ενισχύεται με PCR για να παραχθούν κλώνοι των αρχικών τμημάτων για να ακολουθήσει η αλληλούχηση (Nowrousian, 2010). Νέες τεχνικές αλληλούχησης DNA παρέχουν υψηλή ταχύτητα και διεκπεραιώνουν μεγάλο όγκο εργασίας με αποτέλεσμα κάτι που χρειαζόνταν χρόνια με τη μέθοδο Sanger να πραγματοποιείται μέσα σε εβδομάδες με τις νέες τεχνικές (Wilhelm *et. al*, 2009). Ο αυτοματισμός και η ικανότητα εκτέλεσης πολλών αντιδράσεων μικρού όγκου ταυτόχρονα είναι τα χαρακτηριστικά των NGS (Wilhelm *et. al*, 2009; Nowrousian, 2010).

Ωστόσο, περιοριστικός παράγοντας είναι το υψηλό κόστος τους (Wilhelm *et. al*, 2009). Ένα κοινό μειονέκτημα όλων των NGS είναι το μικρό μέγεθος αλληλουχίας ανά διάβασμα και το αυξημένο ποσοστό λαθών σε σχέση με τα αντίστοιχα της Sanger. Το μικρό μέγεθος των παραγόμενων αλληλουχιών σε συνδυασμό με το μεγάλο όγκο της παραγόμενης πληροφορίας, η οποία επαναλαμβάνεται πολλές φορές, αποτελεί σημαντικό πρόβλημα για την εύρεση των πλήρων τμημάτων του υλικού (Nowrousian, 2010). Αυτό το πρόβλημα

επιλύεται με τη χρήση βιοπληροφορικής ανάλυσης και δημιουργίας νέων αλγορίθμων (Wilhelm *et. al.*, 2009).

Μια άλλη σημαντική βελτίωση είναι η ικανότητα να αλληλουχηθούν και τα δύο άκρα ενός τμήματος DNA (paired-end sequencing) κάτι που έχει υιοθετηθεί από τις πλατφόρμες αλληλούχησης νέας γενεάς (NGS). Επιπρόσθετα, επινοήθηκαν νέες μέθοδοι NGS όπως η ζευγαρωτή αλληλούχηση (mate-pair sequencing) όπου τυχαία τμήματα DNA γίνονται κυκλικά ενώνοντας τα προηγούμενως μακρινά μεταξύ τους άκρα. Έπειτα, τα τμήματα αυτά διατέμνονται για να παραχθούν γραμμικά τμήματα ως αρχικό υλικό για αλληλούχηση. Αυτή η διαδικασία καθιστά δυνατό να επιτευχθεί εύρεση αλληλουχίας από τα άκρα των τμημάτων (Nowrousian, 2010).

Οι NGS μπορούν να χρησιμοποιηθούν για μεταγενωμικές (metagenomics) μελέτες καθώς επίσης για την ανίχνευση των παραλλαγών των αλληλουχιών εντός ξεχωριστών γενωμάτων π.χ. πολυμορφισμός μονού-νουκλεοτιδίου (SNPs), δομικές αλλαγές ή το λόγο προσθηκών/διαγραφών. Οι τεχνολογίες NGS υιοθετήθηκαν και για άλλες ερευνητικές μεθόδους οι οποίες μέχρι πρότινος βασιζόνταν σε υβριδισμούς π.χ μικροσυστοιχίες. Αυτό καθιστά αναγκαία την χρήση των NGS για τη μελέτη του μεταγραφώματος (transcriptomics, RNA-seq) ή την ανάλυση των αλληλεπιδράσεων DNA/πρωτεϊνών (ChIP-seq) (Nowrousian, 2010).

### 1.9 Τα Expressed Sequence Tags (ESTs) και η ανάλυσή τους

Τα ESTs είναι μικρά τμήματα αλληλουχιών cDNA (συνήθως μήκους 200-500 ζευγών βάσεων) η αλληλουχία των οποίων έχει γίνει γνωστή ύστερα από αλληλούχηση (Wolfberg και Landsman, 1997). Αυτά τα τμήματα προέρχονται από αλληλουχίες mRNA. Τα μόρια του mRNA δεν περιέχουν αλληλουχίες εσώνιων, ούτε αλληλουχίες από μη κωδικεούμενες περιοχές του γονιδίου και επομένως τα παραγόμενα ESTs περιέχουν μόνο τη μεταγραφόμενη γονιδιακή πληροφορία (Anonymous 2, 2004). Τα ESTs παρέχουν γνώση για μεταγραφημένα γονίδια σε μια ποικιλία οργανισμών και χρησιμοποιούνται ευρέως στην ανακάλυψη γονιδίων και την ανάλυση της γονιδιακής έκφρασης. Είναι ουσιαστικά τμήματα των μεταγραφημάτων των γονιδίων από τα οποία προέρχονται. Οι αλληλουχίες τους είναι συχνά χαμηλής ποιότητας γεγονός που οφείλεται στο αυξημένο ποσοστό λαθών κατά την αλληλούχηση, ενώ μπορεί να υπάρχουν και επιμολύνσεις προερχόμενες από τις διαδικασίες απομόνωσής των (π.χ. φορείς και προσαρμοστές) (Perteau *et al.*, 2003). Έτσι τα ESTs θα πρέπει να επεξεργαστούν πριν καταχωρηθούν στις βάσεις δεδομένων. Η επεξεργασία των ESTs περιλαμβάνει την αφαίρεση των αλληλουχιών των φορέων που αλληλουχήθηκαν (Picardi *et al.*, 2009). Τέτοιου τύπου επεξεργασία μπορεί να πραγματοποιηθεί με το λογισμό VecScreen (NCBI). Έπειτα, ακολουθεί η ενσωμάτωση των επικαλυπτόμενων ESTs τα οποία αντιστοιχούν στο μεταγράφημα ενός γονιδίου. Αυτή η διαδικασία ονομάζεται EST «συγκέντρωση» (EST clustering). Σε αναλύσεις με μικρούς αριθμούς ESTs δεν είναι απαραίτητη η χρήση εξειδικευμένων προγραμμάτων καθώς αρκεί μια ανάλυση πολλαπλής ευθυγράμμισης. Αντίθετα, σε περιπτώσεις αναλύσεων μεγάλου αριθμού ESTs είναι απαραίτητη η χρήση λογισμικών πακέτων. Αυτά τα λογισμικά παράγουν πιθανές λειτουργικές μονάδες (annotations) μέσω συνδυασμού προγραμμάτων όπως το BLAST, το InterPro, το CAP3 κ.ά.

(Picardi *et al.*, 2009). Τέτοια προγράμματα είναι τα: TIGR Gene Indices (Pertea *et al.*, 2003) και το STACK (Christoffels *et al.*, 2001).

Μετά την επεξεργασία τους οι αλληλουχίες κατατίθενται σε βάσεις δεδομένων (biological databases). Οι βάσεις δεδομένων δύνανται να επικοινωνούν η μία με τη άλλη με άμεσο τρόπο ώστε να είναι εύκολη και γρηγορότερη η εργασία του χρήστη (Anonymous 3, 2004). Αυτές οι βάσεις δεδομένων είναι, ως επί το πλείστον, ελεύθερης πρόσβασης στους χρήστες. Οι αλληλουχίες που κατατίθενται συνοδεύονται και από δεδομένα για το είδος, την ποικιλία, το φυτικό μέρος, ακόμα και για την τεχνική με την οποία έχει απομονωθεί το EST. Ορισμένες βάσεις δεδομένων στις οποίες κατατίθενται τα ESTs και τα υπόλοιπα παραγόμενα δεδομένα από τις μεθόδους αλληλουχήσεων αφού επεξεργαστούν είναι οι: NCBI, DDBJ και η EMBL-EBI. Οι βάσεις αυτές διαθέτουν εκατομύρια καταχωρήσεις από πολλά είδη. Από αυτές, πάνω από το 50% είναι καταχωρήσεις που αφορούν το ανθρώπινο είδος (Teufel *et al.*, 2006). Μία βάση δεδομένων η οποία διαθέτει καταχωρήσεις αποκλειστικά από φυτικά είδη είναι η PlantGDB (Ogata & Suzuki, 2011).

Τα ESTs μπορούν να χρησιμοποιηθούν στη γενωμική έρευνα, στην πρωτεϊνική έρευνα και στη βελτίωση των φυτών. Με τα ESTs μπορεί να πραγματοποιηθεί η δομική περιγραφή των γονιδίων και των προϊόντων αυτών (πρωτεΐνες κ.λπ.), η εύρεση των ορίων των μη μεταγραφόμενων περιοχών (Ogata και Suzuki, 2011), ενώ με τη χρήση ειδικού λογισμικού, π.χ. του TESTLoc, είναι δυνατό να προβλεφθεί η πιθανή υποκυτταρική θέση των πρωτεϊνών (Shen Y. και Burger G., 2010). Επίσης, τα ESTs δύνανται να χρησιμοποιηθούν στην κατασκευή μοριακών δεικτών όπως μικροδορυφόρων (EST-SSR) για την εύρεση των γενετικών σχέσεων και την κατασκευή γενετικών χαρτών (Ogata και Suzuki, 2011). Από τη φυσικιά (*Pistacia vera*) έχουν απομονωθεί και καταχωρηθεί περί τα 1299 ESTs, ενώ 15 καταχωρήσεις πρωτεϊνών αναφέρονται στο συγκεκριμένο είδος (Anonymous 4, 2012).

#### 1.10 Πληροφορίες για λογισμικά βιοπληροφορικής που χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα εργασία

Το λογισμικό VecScreen (NCBI, ΗΠΑ) βοηθά στην ταυτοποίηση τμημάτων αλληλουχιών νουκλεϊνικών οξέων τα οποία προέρχονται από κάποιο φορέα ή από κάποια άλλη γνωστή αλληλουχία πηγή (π.χ. προσαρμοστές). Αυτό το καταφέρνει αναζητώντας όμοιες αλληλουχίες για τμήματα τα οποία ταιριάζουν σε οποιαδήποτε αλληλουχία από μια βάση δεδομένων φορέων (Anonymous 5, 2010)

Τα προγράμματα σύγκρισης και ευθυγράμμισης αλληλουχιών είναι απαραίτητα βιοπληροφορικά εργαλεία στις αναλύσεις αλληλουχιών. Οι πιο ευρέως διαδεδομένοι αλγόριθμοι είναι το basic local alignment search tool (BLAST) και τα παράγωγά του και το ClustalW, ενώ συνεχίζεται η ανάπτυξη νέων αλγορίθμων όπως είναι ο αλγόριθμος Needleman-Wunsch.

Ο αλγόριθμος BLAST χρησιμοποιεί μια ευρετική προσέγγιση βρίσκοντας μικρά συναφή ζευγάρια. Ακολούθως, κάθε ταίρι επεκτείνεται προκειμένου να επιτευχθεί υψηλότερος βαθμός ευθυγράμμισης, με αποτέλεσμα μια τελική βέλτιστη ευθυγράμμιση μεταξύ της προς εξέταση αλληλουχίας και της ομόλογης καταχώρησης. Αυτή η ευρετική προσέγγιση χαρακτηρίζεται από ισοροπία μεταξύ ταχύτητας και ευαισθησίας. Η αλληλουχία προς ανάλυση μπορεί να εισαχθεί στη φόρμα της ιστοσελίδας του BLAST. Η αναζήτηση για



ομόλογες αλληλουχίες μπορεί να γίνει σε διάφορες βάσεις δεδομένων π.χ. nr (non-redundant), htgs (high-throughput genome sequence), στη βάση δεδομένων πρωτεϊνών του BLAST και στη βάση δεδομένων για EST (expressed sequence tags). Ακόμη μπορεί να επιλεγεί και ο οργανισμός ή κάποια κατηγορία οργανισμών (π.χ. Viridiplantae για όλα τα φυτά) για εξειδικευμένη αναζήτηση (Teufel *et al.*, 2006).

Η ποιότητα της ομολογίας-ευθυγράμμισης (alignment) εκτιμάται από το βαθμό ευθυγράμμισης (alignment score) και το E-value. Ο βαθμός ευθυγράμμισης εκτιμάται από την ύπαρξη ή μη ύπαρξη κενών στην ευθυγράμμιση της αλληλουχίας ενδιαφέροντος και της καταχώρησης και εξαρτάται μερικώς από τη μήτρα βαθμολόγησης (scoring matrix). Όσο πιο υψηλός είναι ο βαθμός ευθυγράμμισης τόσο πιο ομόλογες είναι οι αλληλουχίες (Teufel *et al.*, 2006). Το E-value αντιπροσωπεύει την πιθανότητα η ομοιότητα μεταξύ της αλληλουχίας ενδιαφέροντος και της αλληλουχίας της καταχώρησης στη βάση να οφείλεται στην τύχη (Claverie και Notredame, 2007). Εκτός των E-value και του βαθμού ευθυγράμμισης, το BLAST υπολογίζει το ποσοστό ταύτισης και ομοιότητας της αλληλουχίας (νουκλεοτιδική ή πρωτεϊνική) ενδιαφέροντος με την καταχώρηση στη βάση. Στην ιστοσελίδα των αποτελεσμάτων της ανάλυσης υπάρχουν σύνδεσμοι οι οποίοι τα συνδέουν με άλλες βάσεις δεδομένων του NCBI όπως τις EntrezGene, Geo Profiles και τη UniGene, παρέχοντας επιπρόσθετες πληροφορίες για την αλληλουχία ενδιαφέροντος (Teufel *et al.*, 2006).

Το Blast2GO είναι ένα βιοπληροφοριακό εργαλείο για την ανάλυση των αλληλουχιών γονιδίων ή πρωτεϊνών και το σχολιασμό της λειτουργίας αυτών. Το πρόγραμμα παρέχει επίσης πληροφορίες σχετικά με τη γονιδιακή οντολογία (gene ontology). Το πρόγραμμα πραγματοποιεί αναζητήσεις μέσω του BLAST εντοπίζει όμοιες αλληλουχίες με τις προς εξέταση αλληλουχίες, αντλεί πληροφορίες για την οντολογία των ομόλογων και τελικώς παρέχει στο χρήστη πληροφορίες για την οντολογία της αλληλουχίας ενδιαφέροντος (Conesa και Gotz, 2009).

Το BLAST δεν δίνει τη δυνατότητα πολλαπλής ευθυγράμμισης. Για την παρουσίαση και την επίδειξη δομικών χαρακτηριστικών σε έναν αριθμό σχετιζομένων χαρακτηριστικών είναι απαραίτητη η πολλαπλή ευθυγράμμιση. Το περισσότερο χρησιμοποιούμενο πρόγραμμα-αλγόριθμος για πολλαπλή ευθυγράμμιση είναι το ClustalW. Το ClustalW αποτελεί ένα συνδυασμό φυλογενετικής και ευρετικής προσέγγισης. Αρχικά δημιουργείται ένα φυλογενετικό δένδρο χρησιμοποιώντας μεθόδους neighbour-joining. Έπειτα, ξεκινώντας με τις δύο πιο «κοντινές» αλληλουχίες, όλες οι γειτονικές ευθυγραμμίζονται χρησιμοποιώντας ευρετικό αλγόριθμο με αποτέλεσμα την πλήρη ευθυγράμμιση όλων των αλληλουχιών (Teufel *et al.*, 2006).

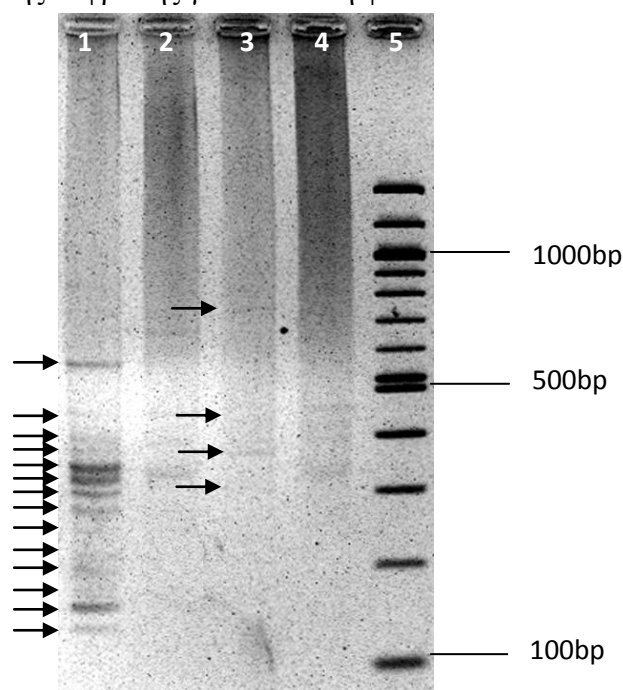
### **Περίληψη της Πτυχιακής Εργασίας**

Στα πλαίσια της πτυχιακής εργασίας μου επιχειρήθηκε η ανίχνευση της διαφοράς της γονιδιακής έκφρασης μεταξύ ανθοφόρων οφθαλμών από καρποφορούντες βλαστούς (ON) και ανθοφόρων οφθαλμών από μη καρποφορούντες βλαστούς (OFF) στη φιστικιά, κατά την περίοδο της επαγωγής του σήματος της οφθαλμόπτωσης της φιστικιάς.

Αρχικά προσδιορίστηκε ότι το χρονικό διάστημα επαγωγής ή/και μετακίνησης του φυσιολογικού σήματος της οφθαλμόπτωσης για το έτος 2008 τοποθετείται περί τα μέσα Ιουνίου, περίοδος που συμπίπτει με την κατά περίπου 1/3 πλήρωση του ενδοκαρπίου από το

ενδοσπέρμιο. Φυτικό υλικό συλλεχθέν εκείνη την περίοδο χρησιμοποιήθηκε για τις μοριακές αναλύσεις.

Για την πραγματοποίηση των μοριακών αναλύσεων αξιολογήθηκαν διάφορες μέθοδοι απομόνωσης ολικού RNA από ανθοφόρους οφθαλμούς φιστικιάς ποικιλίας «Pontikis» και βρέθηκε ότι η καταλληλότερη μέθοδος για την απομόνωση ολικού RNA από οφθαλμούς φιστικιάς ήταν η μέθοδος κατά Gasic. Μετά την απομόνωση ολικού RNA πραγματοποιήθηκαν δύο μοριακές αφαιρέσεις με τη χρήση του κατασταλτικού αφαιρετικού υβριδισμού (suppression subtractive hybridization, SSH). Από τη διαδικασία του κατασταλτικού αφαιρετικού υβριδισμού παρατηρήθηκαν διαφορές στη γονιδιακή έκφραση μεταξύ των δύο κατηγοριών ανθοφόρων οφθαλμών, οι οποίες πιθανόν να σχετίζονται με το φαινόμενο της οφθαλμόπτωσης στη φιστικιά (Εικ. 2). Τέλος, εντοπίστηκε και αλληλουχήθηκε τμήμα της δεύτερης υπομονάδας του γονιδίου του ενζύμου «αφυδρογονάση του NADH» (Acc. No: HM991263.1) της φιστικιάς, το οποίο μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως μάρτυρας σε μελέτες ανάλυσης έκφρασης γονιδίων στη φιστικιά.



**Εικ. 2:** Ηλεκτροφόρηση των προϊόντων του κατασταλτικού αφαιρετικού υβριδισμού.

**1:** Διαφορές έκφρασης γονιδίων οφθαλμών από καρποφορούντες βραχίονες (ON) από οφθαλμούς προερχόμενους από μη-καρποφορούντες (OFF), **2:** μη-αφαιρεμένο δείγμα ON (μάρτυρας), **3:** Διαφορές έκφρασης γονιδίων οφθαλμών από μη-καρποφορούντες βραχίονες (OFF) από οφθαλμούς προερχόμενους από καρποφορούντες (ON), **4:** μη-αφαιρεμένο δείγμα OFF (μάρτυρας), **M:** 100 bp DNA Ladder.

### **Σκοπός της μεταπτυχιακής ερευνητικής εργασίας**

Ο σκοπός της παρούσας μεταπτυχιακής ερευνητικής εργασίας ήταν η σύγκριση μεταξύ μεταγραφημάτων (mRNA) γονιδίων τα οποία εκφράζονται σε οφθαλμούς φιστικιάς όταν αυτοί φέρονται σε καρποφορούντες (ON) με αυτούς που φέρονται σε μη καρποφορούντες (OFF) βραχίονες. Δηλαδή, εντοπίστηκαν στο νουκλεοτιδικό επίπεδο οι διαφορές που προέκυψαν από τη διαδικασία του κατασταλτικού αφαιρετικού υβριδισμού και έγινε βιοπληροφορική ανάλυση των αλληλουχιών αυτών.

## 2. ΥΛΙΚΑ και ΜΕΘΟΔΟΙ

### 2.1 Φυτικό υλικό - Απομόνωση ολικού RNA (total RNA) - Απομόνωση mRNA - Παραγωγή cDNA - Εφαρμογή του κατασταλακτικού αφαιρετικού υβριδισμού

Το φυτικό υλικό απετέλεσαν ανθοφόροι οφθαλμοί από καρποφορούντες (επονομαζόμενοι ON) και μη καρποφορούντες (επονομαζόμενοι OFF) βραχίονες ενήλικων δένδρων θηλυκής φιστικιάς (*Pistacia vera* L.) ποικιλίας 'Pontikis', οι οποίοι συλλέχτηκαν την περίοδο ταχείας πλήρωσης του ενδοκαρπίου. Η συγκεκριμένη ονοματολογία (ON, OFF) ακολουθείται σε όλη την πειραματική διαδικασία.

Υστερα από την ανάλυση των αποτελεσμάτων του δενδροκομικού μέρους έγινε επιλογή του φυτικού υλικού και ακολούθησε η απομόνωση ολικού RNA (total RNA) με τη μέθοδο απομόνωσης RNA κατά Gasic *et al.* (2004) (βλ. Πτυχιακή μελέτη, Τσαφούρος 2009).

Ο κατασταλακτικός αφαιρετικός υβριδισμός (Κ.Α.Υ.) απαιτεί ως αρχικό υλικό αγγελιοφόρο RNA (mRNA). Το mRNA που χρησιμοποιήθηκε στον Κ.Α.Υ. μετατράπηκε σε cDNA με το κιτίο SMARTer™ PCR cDNA Synthesis Kit (Clontech, U.S.A.) και ακολούθησε ο Κ.Α.Υ. με τη χρήση του κιτίου "PCR-Select™ cDNA Subtraction Kit.

### 2.2 Δημιουργία αφαιρετικών βιβλιοθηκών

Υστερα από τον Κ.Α.Υ. ακολούθησε η δημιουργία των δύο cDNA βιβλιοθηκών (μία για την αφαίρεση ON-OFF και μία για την αφαίρεση OFF-ON), οι οποίες θα περιείχαν τις διαφορές στη γονιδιακή έκφραση μεταξύ των δύο φυσιολογικών καταστάσεων (ON και OFF).

Μετά τη δεύτερη αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (PCR) του Κ.Α.Υ. έλαβε χώρα προσθήκη αδενοσινών (dADP) (A-tailing) στα 3'-άκρα των προϊόντων της PCR ως εξής:

1. Προσθήκη 0,5 μl Taq πολυμεράσης.
2. Επώαση για 30 min στους 72 °C.
3. Τοποθέτηση στον πάγο.

Για την απομάκρυνση των υπολειμμάτων του ενζύμου, της περίσσειας των εκκινήτων, των μεμονωμένων νουκλεοτιδίων, των αλάτων και λοιπών ανεπιθύμητων συστατικών ακολούθησε καθαρισμός του προϊόντος της δεύτερης PCR με το κιτίο NucleoSpin® Gel and PCR Clean-up (Macherey-Nagel, DE) όπως υποδεικνύει το εγχειρίδιο χρήσης του κιτίου:

1. Προσθήκη 28 μl HPLC-νερού στο προϊόν της δεύτερης PCR (τελικός όγκος 50 μl).
2. Προσθήκη 200 μl NT buffer (4-πλάσιος όγκος).
3. Τοποθέτηση κολώνας καθαρισμού σε σωλήνα συλλογής 2 ml.
4. Μετάγγιση του δείγματος στην κολώνα καθαρισμού.
5. Φυγοκέντρηση δείγματος για 1 min στα 11,000 g.
6. Απομάκρυνση διηθήματος.
7. Προσθήκη 600 μl NT3 buffer.
8. Φυγοκέντρηση δείγματος για 1 min στα 11,000 g και απομάκρυνση διηθήματος.
9. Επιπλέον φυγοκέντρηση δείγματος για 2 min στα 11,000 g.
10. Τοποθέτηση για 3 min στους 50 °C για εξάτμιση της αιθανόλης.
11. Τοποθέτηση της κολώνας καθαρισμού σε νέο μικροσωλήνα 1,5 ml.
12. Προσθήκη 20 μl HPLC-νερό στο κέντρο της κολώνας.
13. Επώαση 1,5 min και φυγοκέντρηση δείγματος για 1 min στα 11.000 g.
14. Αποθήκευση του δείγματος στους -20 °C.

Έπειτα, πραγματοποιήθηκε συγκόλληση (ligation) των προϊόντων της PCR με τον πλασμιδιακό φορέα (pGEM<sup>®</sup>-T Easy Vector, Promega, USA) (Anonymous 6, 2007). Αυτή συνίσταται στο συνδυασμό σε μικροσωλήνα 200 µl:

2X Rapid ligation buffer	5 µl
pGEM-T Easy Vector	1 µl
DNA	3 µl
T4 DNA Ligase	1 µl
<hr/>	
Συνολικός όγκος	10 µl

Ακολούθησε επώαση για 1 ώρα σε θερμοκρασία δωματίου και τοποθέτηση στους 4 °C κατά τη διάρκεια της νύχτας.

Υστερα από τη συγκόλληση πραγματοποιήθηκε μετασχηματισμός επιδεικτικών βακτηρίων (competent cells) *Escherichia coli* DH5a (Invitrogen, UK) (Anonymous 7, 2006) σε σωλήνα erppendorf των 2 ml ως ακολούθως:

1. Στο σύνολο του όγκου της αντίδρασης της συγκόλλησης, ήτοι 10 µl, προστέθηκαν 40 µl HPLC νερού.
2. Προσθήκη των 50 µl σε σωλήνα erppendorf με 100 µl βακτηριακού αιωρήματος DH5a.
3. Τοποθέτηση στον πάγο για 30 min.
4. Τοποθέτηση του σωλήνα στο υδατόλουτρο στους 42 °C για 45 δευτερόλεπτα.
5. Τοποθέτηση του σωλήνα στον πάγο για 2 min.
6. Προσθήκη 900 µl υγρού θρεπτικού μέσου ανάπτυξης LB και επανατοποθέτηση του σωλήνα στον πάγο.
7. Επώαση με περιστροφή για 1 ώρα στους 37 °C.
8. Λήψη 100 µl από το παραπάνω διάλυμα και άπλωμά του σε τριβλίο Petri που περιέχει στερεό υπόστρωμα LB με αμπικιλίνη (αντιβιοτικό), x-gal (χρωμογενής ένωση).
9. Επανάληψη του παραπάνω βήματος για νέο τριβλίο Petri.
10. Φυγοκέντρηση του σωλήνα με το υπόλοιπο περιεχόμενο (~800 µl) για 5 min στις 14,000 rpm.
11. Απομάκρυνση όλου του υπερκειμένου εκτός από περίπου 100 µl.
12. Επαναδιάλυση του ιζήματος στα υπολειπόμενα 100 µl LB.
13. Άπλωμα βακτηριακού αιωρήματος σε νέο τριβλίο Petri.
14. Τοποθέτηση των τρυβλίων στους 37 °C κατά τη διάρκεια της νύχτας.

Ακολούθησε σήμανση των μονήρων λευκών αποικιών και μεταφορά αυτών σε αριθμημένες θέσεις σε τρυβλία συλλογής (LB με αμπικιλίνη), με τη χρήση αποστειρωμένης οδοντογλυφίδας (ξεχωριστά για κάθε αποικία). Τα τριβλία τοποθετήθηκαν στους 37 °C κατά τη διάρκεια της νύχτας για ανάπτυξη των αποικιών. Έπειτα, ακολούθησε λήψη μέρους της κάθε αποικίας και διάλυση αυτού σε 100 µl HPLC-νερό που είχε τοποθετηθεί σε μικροσωλήνες των 200 µl. Ακολούθως, σε μικροσωλήνα των 200 µl (έναν ανά αποικία) πραγματοποιήθηκε αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης αποικίας (colony PCR) για τη διαπίστωση παρουσίας του ενθέματος στον πλασμιδιακό φορέα. Ο κάθε μικροσωλήνας περιέχει:

HPLC νερό	11,5 µl
Thermopol Buffer	1,5 µl
dNTP	0,6 µl
Πρόσθιος εκκινητής T7	0,3 µl

Οπίσθιος εκκινητής SP6	0,3 $\mu$ l
Taq πολυμεράση	0,075 $\mu$ l
Δείγμα	0.725 $\mu$ l
<hr/>	
Τελικός όγκος	15 $\mu$ l

Το πρόγραμμα που εκτελείται από το θερμοκυκλοποιητή είναι:

Αρχική αποδιάταξη:	94 °C για 3 min	} 35 κύκλοι
Αποδιάταξη DNA:	94 °C για 1 min	
Υβριδισμός εκκινητών με τη μήτρα:	50 °C για 1 min	
Επιμήκυνση προϊόντων:	72 °C για 1 min	
Τελική επιμήκυνση προϊόντων:	72 °C για 5 min	

Ακολούθησε διαχωρισμός των προϊόντων της PCR σε πηκτή αγαρόζης συγκέντρωσης 1,5 %, σε ρυθμιστικό διάλυμα 0,5 X TAE με χρήση 5  $\mu$ l δείγματος για να βρεθεί ποιά αποικία είχε δεχθεί πλασμίδιο στο οποίο είχε κλωνοποιηθεί ένθεμα.

Στη συνέχεια επιλεγμένες βακτηριακές αποικίες αναπτύχθηκαν σε υγρές καλλιέργειες για την απομόνωση πλασμιδιακού DNA με το κιτίο Wizard plus SV Minipreps DNA purification System (Promega, U.S.A.) σύμφωνα με το εγχειρίδιο χρήσης του κιτίου (Anonymous 8, 2009). Ακολουθήθηκε η παρακάτω διαδικασία:

1. Οι μονήρεις αποικίες που επιλέχθηκαν (βρίσκονται στο τριβλίο συλλογής) μεταφέρθηκαν με χρήση αποστειρωμένης οδοντογλυφίδας σε δοκιμαστικό σωλήνα ο οποίος περιείχε 5 ml υγρού LB και αμπικιλίνη.
2. Τοποθέτηση του δοκιμαστικού σωλήνα στους 37 °C με περιστροφή στις 180 rpm κατά τη διάρκεια της νύχτας.
3. Λήψη 1,5 ml βακτηριακής καλλιέργειας και μετάγγιση του διαλύματος σε σωλήνα erpendorf του 1,5 ml.
4. Ακολουθεί φυγοκέντρηση του σωλήνα erpendorf για 5 min στις 10,000 rpm και απομάκρυνση υπερκειμένου.
5. Επανάληψη των βημάτων 3 και 4.
6. Προσθήκη 250  $\mu$ l διαλύματος αιώρησης βακτηριακών κυττάρων (cell suspension solution) και επαναδιάλυση του ιζήματος.
7. Προσθήκη 250  $\mu$ l του διαλύματος λύσεως κυττάρων (cell lysis solution) και αναστροφή του σωλήνα τέσσερις φορές.
8. Επώαση για 3 min σε θερμοκρασία δωματίου.
9. Προσθήκη 10  $\mu$ L διαλύματος αλκαλικής πρωτεάσης (Alkaline Protease solution)
10. Αναστροφή του σωλήνα τέσσερις φορές.
11. Επώαση του σωλήνα για 5 min σε θερμοκρασία δωματίου.
12. Προσθήκη 350  $\mu$ l διαλύματος ουδετεροποίησης (Neutralization solution) και αναστροφή του σωλήνα τέσσερις φορές.
13. Φυγοκέντρηση για 10 min στις 14,000 rpm σε θερμοκρασία δωματίου.
14. Τοποθέτηση «κολώνας φυγοκέντρωσης» σε σωλήνα συλλογής των 2 ml.
15. Μεταφορά των 850  $\mu$ l υπερκειμένου από το βήμα 12 στην «κολώνα».
16. Φυγοκέντρηση για 1 min σε θερμοκρασία δωματίου και απομάκρυνση του περιεχομένου του σωλήνα συλλογής.
17. Προσθήκη 750  $\mu$ l διαλύματος πλύσης κολώνας (Column wash solution).
18. Φυγοκέντρηση για 1 min σε θερμοκρασία δωματίου και απομάκρυνση του περιεχομένου του σωλήνα συλλογής.
19. Προσθήκη 250  $\mu$ l διαλύματος πλύσης (wash solution)

20. Φυγοκέντρηση για 2 min σε θερμοκρασία δωματίου.
21. Μεταφορά της «κολώνας» σε νέο σωλήνα erpendorf των 1,5ml.
22. Προσθήκη 100 μl νερού νουκλεασών.
23. Επώαση για 5 min.
24. Φυγοκέντρηση για 1 min σε θερμοκρασία δωματίου, συλλογή διηθήματος και απομάκρυνση της «κολώνας».
25. Αποθήκευση των πλασμιδίων στους -20 °C.

Η διαδικασία του μετασχηματισμού επαναλήφθηκε τόσο για τα δείγματα πλασμιδίων που δεν ήταν δυνατό να αλληλουχηθούν όσο και για τα υπόλοιπα δείγματα ώστε αυτά να αποθηκευθούν με τη μορφή βακτηρίων εμπειροχομένων των πλασμιδίων αυτών. Τα επιδεκτικά βακτήρια ήταν του είδους *Escherichia coli* και τύπου DH5a (Invitrogen, UK) (Αnonymous, 7). Η διαδικασία του μετασχηματισμού περιγράφεται παραπάνω. Για την πραγματοποίηση του χρησιμοποιήθηκαν 50 μl αιωρήματος βακτηρίων και 0,5 μl πλασμιδίου ανά δείγμα. Ακολούθησε σήμανση μονήρων λευκών αποικιών και δημιουργία πιάτων συλλογής, πραγματοποιήθηκε αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης αποικίας (colony PCR), όπως περιγράφεται παραπάνω, για τη διαπίστωση παρουσίας του επιθυμητού ενθέματος στον πλασμιδιακό φορέα στις αποικίες.

### 2.3 Αποθήκευση βακτηρίων

Ακολουθώς οι αποικίες που επιλέχθηκαν αποθηκεύτηκαν με τη μορφή βακτηριακού αιωρήματος σε διάλυμα γλυκερόλης και σε θερμοκρασία -80 °C. Η διαδικασία αποθήκευσης βακτηριακών κυττάρων με τα επιθυμητά πλασμίδια έχει ως εξής:

1. Οι αποικίες που έχουν επιλεγεί μεταφέρονται σε δοκιμαστικούς σωλήνες (μία σε κάθε σωλήνα) που περιέχουν 5 ml LB και αμικικιλίνη.
2. Ακολουθεί τοποθέτηση των σωλήνων στους 37 °C με περιστροφή στις 180 rpm κατά τη διάρκεια της νύχτας.
3. Μεταφορά 600 μl αιωρήματος βακτηρίων από το σωλήνα σε erpendorf 1,5 ml, ο οποίος περιέχει 400 μl γλυκερόλης (50%) και αποθήκευση στους -80 °C.

### 2.4 Απομόνωση πλασμιδίων από τις βακτηριακές καλλιέργειες

Η απομόνωση των πλασμιδίων από τα βακτήρια πραγματοποιήθηκε με τη μέθοδο κατά Maniatis (2001):

Προς τούτο παρασκευάστηκαν τρία διαλύματα:

Διάλυμα 1: 5 ml 2M Tris-HCL pH 8.0  
8 ml 0.5M EDTA  
3.6 g Glucose  
σε 400 ml milliQ νερό

Προσθήκη 5 μl RNase I (20 mg/ml) για κάθε 1 ml διαλύματος 1. Η RNase I προστίθεται ξεχωριστά κάθε φορά.

Διάλυμα 2 (για παρασκευή 1 ml): 40 μl NaOH (5N)  
50 μl SDS (20%)  
910 μl milliQ νερό

Το διάλυμα 2 απαιτείται να είναι πρόσφατα παρασκευασμένο.

Διάλυμα 3: 300 ml 5M KOAc  
57,5 ml glacial acetic acid  
σε τελικό όγκο 500 ml milliQ νερό

Η διαδικασία απομόνωσης έχει ως εξής:

1. Πραγματοποιείται λήψη 1,5 ml από τους δοκιμαστικούς σωλήνες ανάπτυξης βακτηρίων και μεταφορά του διαλύματος στους αντίστοιχους σωλήνες erpendorf όγκου 1,5 ml.
2. Φυγοκέντρηση του σωλήνα για 5 min στις 13,000 rpm και απομάκρυνση του υπερκειμένου.
3. Επανάληψη των βημάτων 1 και 2.
4. Προσθήκη 200 ml παγωμένου διαλύματος I.
5. Τοποθέτηση στον πάγο.
6. Προσθήκη 400 ml φρέσκου διαλύματος II.
7. Αναστροφή δέκα φορές και τοποθέτηση στον πάγο.
8. Αμέσως προσθήκη 300 ml παγωμένου διαλύματος III.
9. Ανακίνηση και τοποθέτηση στον πάγο για μια ώρα.
10. Φυγοκέντρηση για 10 min στις 13,000 rpm.
11. Μεταφορά υπερκειμένου σε ένα νέο σωλήνα των 2 ml.
12. Προσθήκη ίσης ποσότητας ισοπροπανόλης και ανάμειξη με αναστροφή.
13. Επώαση για 2 min.
14. Φυγοκέντρηση για 10 min στις 13,000 rpm.
15. Απομάκρυνση υπερκειμένου.
16. Προσθήκη 500 ml αιθανόλης 70 % για πλύση του ιζήματος.
17. Φυγοκέντρηση για 5 min στις 13,000 rpm.
18. Απομάκρυνση αιθανόλης.
19. Επαναδιάλυση ιζήματος σε 50 ml HPLC-νερό.
20. Αποθήκευση στους -20 °C.

## 2.5 Αλληλούχηση DNA

Μέρος από το απομονωμένο πλασμίδιο (~ 100 µg DNA) στάλθηκε για αλληλούχηση στο Εργαστήριο Ανοσοβιολογίας του τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, και στην εταιρεία “Beckman Coulter Genomics” (Essex, UK). Τα αποτελέσματα των αλληλουχήσεων εστάλησαν από τα ως ανω εργαστήρια μέσω ηλεκτρονικού ταχυδρομείου.

## 2.6 Βιοπληροφοριακή ανάλυση των αλληλουχιών που αποκτήθηκαν

Οι αλληλουχίες που παραλήφθηκαν από το Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας και την “Beckman Coulter Genomics” επεξεργάστηκαν με το πρόγραμμα VecScreen (NCBI, USA) για την εύρεση και αφαίρεση των τμημάτων του πλασμιδίου και των προσαρμοστών έτσι ώστε να αποκτηθούν οι «καθαρές» αλληλουχίες της φιστικής. Αποκτήθηκαν συνολικά 32 αλληλουχίες, 12 «καθαρές» αλληλουχίες προερχόμενες από την ON αφαιρετική βιβλιοθήκη και 20 αλληλουχίες από την OFF αφαιρετική βιβλιοθήκη, οι οποίες απετέλεσαν μια μικρή βάση δεδομένων (32 αλληλουχιών).



Ύστερα από την εύρεση των «καθαρών» αλληλουχιών ακολούθησε η βιοπληροφορική ανάλυση τους. Αρχικά, πραγματοποιήθηκε έλεγχος για τον εντοπισμό όμοιων αλληλουχιών μεταξύ των αποκτηθεισών (pairwise alignment) αλληλουχιών. Προς τούτο, χρησιμοποιήθηκε το πρόγραμμα StandAlone Blast (έκδοση - 2.2.25+, NCBI) και πιο συγκεκριμένα το makeblastdb.exe για την κατασκευή της βάσης δεδομένων των αλληλουχιών μας και το blastn.exe για τη σύγκριση των αλληλουχιών αυτών. Με τη χρήση του τελευταίου, υπολογίζεται το E-value των δύο αλληλουχιών που συγκρίνονται κάθε φορά, και με βάση αυτό γίνεται η σύγκριση των αλληλουχιών για την εύρεση πιθανής ομολογίας μεταξύ τους. Η διαδικασία σύγκρισης των αλληλουχιών μπορεί να διαιρεθεί στα εξής επιμέρους στάδια:

A) Κατασκευή βάσης δεδομένων αλληλουχιών που αποκτήθηκαν:

Τη βάση δεδομένων απετέλεσε ένα αρχείο .fasta (μικρή βάση δεδομένων όπως αναφέρθηκε ανωτέρω), το οποίο περιείχε όλες τις «καθαρές» αλληλουχίες και των δύο αφαιρέσεων. Για την κατασκευή της βάσης δόθηκε η κάτωθι εντολή:

```
Makeblastdb -in 1.txt -dbtype nucl -parse_seqids -out 2 -title "3", όπου,
```

1: txt: το όνομα του αρχείου που περιέχει το σύνολο των αλληλουχιών

2: σειρά αρχείων που θα δημιουργηθούν από το πρόγραμμα και αποτελούν τη βάση δεδομένων με διάφορες επεκτάσεις κατανοητές από το πρόγραμμα.

3: Ο τίτλος της βάσης δεδομένων.

B) Εκτέλεση του blastn – συγκρίσεις έναντι της σχηματισθείσας βάσης δεδομένων:

```
Blastn -query 4.txt -db 2 -out 4_output.txt, όπου,
```

4: το όνομα του αρχείου .txt σε .fasta μορφή που περιέχει την αλληλουχία που θα συγκριθεί με αυτές της βάσης δεδομένων.

Η εκτέλεση του σταδίου B πραγματοποιήθηκε τόσες φορές όσες και οι προς έλεγχο αλληλουχίες, δηλαδή 32 φορές.

Ύστερα από την εύρεση των όμοιων (σύμφωνα με το E-value) αλληλουχιών ακολούθησε η πολλαπλή συστοίχισή τους με το πρόγραμμα ClustalW2 (EBI, UK) όπου βρέθηκε αν οι αλληλουχίες ήταν ίδιες σε κάποιο τμήμα τους ή στο σύνολο του μήκους τους.

Έπειτα από την ολοκλήρωση των παραπάνω αναλύσεων ακολούθησε η αναζήτηση ομόλογων των απομονωθέντων αλληλουχιών τμημάτων στις βάσεις δεδομένων Expressed Sequencing Tags (EST), Nucleotide Selection (nr/nt) και στη βάση δεδομένων για τις πρωτεΐνες του NCBI. Ακολούθησε επιλογή των προς μελέτη καταχωρήσεων με βάση το E-value σε κάθε σύγκριση και των λειτουργιών των ομόλογων τμημάτων/γονιδίων. Τέλος, οι αλληλουχίες των ESTs κατηγοριοποιήθηκαν σε κατηγορίες λειτουργιών γονιδίων σύμφωνα με το Blast2GO (Biobam, Ισπανία).

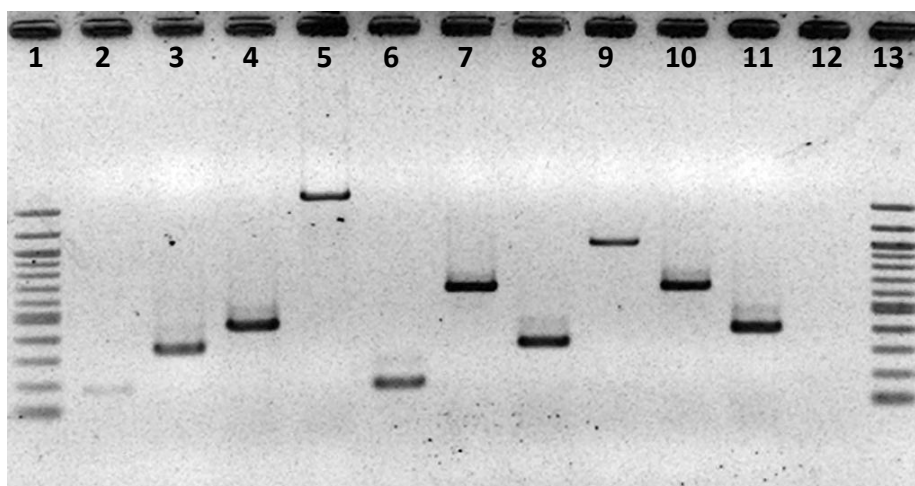
### 3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Η μεταπτυχιακή αυτή εργασία είναι άμεση συνέχεια της προπτυχιακής μου μελέτης. Στην προπτυχιακή μου εργασία απομονώθηκε ολικό RNA από οφθαλμούς φιστικιάς σε καρποφορούντες (ON) και μη καρποφορούντες βλαστούς (OFF), αποκτήθηκε mRNA και πραγματοποιήθηκε ο Κ.Α.Υ., από τον οποίο προέκυψαν διαφορετικά εκφραζόμενα γονίδια (βλ. σελ. 17).

#### 3.1 Κλωνοποίηση των προϊόντων του Κ.Α.Υ. και δημιουργία cDNA αφαιρετικών βιβλιοθηκών

Ύστερα από την εφαρμογή του Κ.Α.Υ. (PCR™ Select cDNA Subtraction Kit) ακολούθησε η κλωνοποίηση των προϊόντων της δεύτερης PCR της διαδικασίας του Κ.Α.Υ. Δημιουργήθηκαν δύο cDNA βιβλιοθήκες. Η μία βιβλιοθήκη περιέχει το cDNA των μεταγραφημάτων της αφαίρεσης ON-OFF, δηλαδή γονιδίων που εκφράζονται στους οφθαλμούς βλαστών οι οποίοι φέρονται σε βραχίονες που φέρουν καρπούς κατά την περίοδο ταχείας πλήρωσης του ενδοκαρπίου (ON). Η άλλη περιέχει cDNA από την αφαίρεση OFF-ON, δηλαδή γονιδίων που εκφράζονται στους οφθαλμούς μη-καρποφορούντων κλάδων κατά την περίοδο ταχείας πλήρωσης του ενδοκαρπίου (OFF).

Ύστερα από το μετασχηματισμό, την επιλογή και μεταφορά των μετασχηματισμένων βακτηριακών αποικιών σε τριβλία συλλογής ακολούθησε αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης αποικίας (colony PCR) για την εξακρίβωση της παρουσίας και του μεγέθους ενθέματος στις αποικίες που μεταφέρθηκαν στα τριβλία συλλογής. Ο συνολικός αριθμός των αποικιών που επιλέχθηκαν και μεταφέρθηκαν σε τριβλία συλλογής ήταν 86, ήτοι 33 αποικίες για την ON-OFF βιβλιοθήκη και 53 για την OFF-ON βιβλιοθήκη. Τα προϊόντα της colony PCR διαχωρίστηκαν με ηλεκτροφόρηση σε πηκτή αгарόζης (Εικ.3.).



**Εικ. 3.** Ηλεκτροφόρηση ορισμένων από τα προϊόντα των colony PCR.

**2:** Μάρτυρας γνωστού μεγέθους, **3-12:** Δείγμα από τα προϊόντα των colony PCR, **1, 13:** 100 bp DNA Ladder.

Με βάση τα μεγέθη DNA που παρατηρήθηκαν στις ηλεκτροφορήσεις επιλέχθηκαν οι αποικίες για απομόνωση πλασμιδιακού DNA. Απορρίφθηκαν αποικίες που εμφάνιζαν κοινό μέγεθος ενθέματος και αποικίες στις οποίες η ηλεκτροφόρηση εμφάνισε πάνω από μία ζώνες.

Τελικά προέκυψαν 32 αποικίες από τις οποίες οι 12 αντιστοιχούν στην ON-OFF βιβλιοθήκη και οι υπόλοιπες 20 στην OFF-ON .

Ακολούθησε ανάπτυξη των αποικιών αυτών σε υγρές καλλιέργειες και απομόνωση του πλασμιδιακού DNA (miniprep) των καλλιεργειών αυτών. Τα προϊόντα των miniprep διαχωρίστηκαν με ηλεκτροφόρηση σε πηκτική αγαρόζης για την επιβεβαίωση παρουσίας πλασμιδίου και την κατά προσέγγιση ποσοτικοποίηση του DNA.

Πλασμιδιακό DNA από τις 32 αποικίες απεστάλλει για αλληλούχηση και από την επεξεργασία των αλληλουχιών που παρελήφθησαν από τις εταιρείες αλληλούχησης προέκυψαν οι «καθαρές» (δηλαδή χωρίς προσαρμοστές) αλληλουχίες. Οι αλληλουχίες ευρίσκονται στο Παράρτημα (Πιν. 3, Πιν. 4). Ο αριθμός δίπλα από τον τύπο της βιβλιοθήκης αντιστοιχεί στον αύξοντα αριθμό που χαρακτήριζε την αποικία στο πιάτο συλλογής.

### 3.2 Απόκτηση «καθαρών» αλληλουχιών

Με τη χρήση του προγράμματος VecScreen (NCBI, USA) αφαιρέθηκαν τα τμήματα πλασμιδίου και προσαρμοστών από τις αλληλουχίες που απεστάλησαν από τα εργαστήρια αλληλούχησης και προέκυψαν οι «καθαρές» αλληλουχίες, δηλαδή αλληλουχίες χωρίς τμήματα πλασμιδίου και προσαρμοστών. Οι καθαρές αλληλουχίες πρόκειται σύντομα να κατατεθούν στη βάση δεδομένων ESTs της NCBI.

### 3.3 Βιοπληροφορική ανάλυση των «καθαρών» αλληλουχιών I

Ύστερα από την εύρεση των αλληλουχιών των ενθεμάτων (πλασμιδία που στάλθηκαν για αλληλούχηση) ακολούθησε ο έλεγχος ομοιότητας των αλληλουχιών αυτών μεταξύ τους (λογισμικό stand alone blast, έκδοση - 2.2.25+). Το λογισμικό υπέδειξε πως υπάρχουν δύο ομάδες με αλληλουχίες που έχουν κοινά τμήματα (ομόλογες περιοχές). Αυτές είναι:

1<sup>η</sup> Ομάδα: OFF 17, OFF 9, OFF 36, OFF 8 (Πιν. 2)

2<sup>η</sup> Ομάδα: OFF 21, OFF 32.

**Πίνακας 2.** E-values των αλληλουχιών της 1<sup>ης</sup> Ομάδας αλληλουχιών που βρέθηκε ότι παρουσιάζουν ομόλογες περιοχές.  
(Ανάλυση πραγματοποιήθηκε με το λογισμικό stand alone blast).

	OFF 8	OFF 9	OFF 17	OFF 36
OFF 8	-	-	-	-
OFF 9	1e-030	-	-	-
OFF 17	7e-068	2e-029	-	-
OFF 36	6e-069	5e-030	6e-084	-

Παρακάτω φαίνονται τα αποτελέσματα της πολλαπλής συστοίχισης της πρώτης ομάδας που ακολούθησε τον έλεγχο για τον εντοπισμό όμοιων αλληλουχιών.

OFF\_17  
 OFF\_9  
 OFF\_36  
 OFF\_8

```

-----
-----
ACGCAGTGTATCAACGCAGAGTAAGCAGTGGTATCAACGCAGAGTAAGCAGTGGTATCAA 60
-----
  
```

OFF\_17 -----ACTTTTTTTT-----TTTTTTTTTTTTTTTTTTAATTT 32  
 OFF\_9 -----ACTTTTTTTT-----TTTTTTT 15  
 OFF\_36 CACAGAGTAAGCAGTGGTATCAACGCAGAGTAAGCAGTGGTATC----- 104  
 OFF\_8 ACATGGTAAGCAGTGGTATCAACGCAGAGTAAGCAGTGGTATC----- 43  
                   \* \* \* \*  \* \* \*

OFF\_17 AACAAACTATTATATCAGATAAGACCTGCTACCACAAGTCAATTTTACAGAGTAGTAACA 92  
 OFF\_9 -----ACT-----CTGCTA----- 24  
 OFF\_36 ---AACGCAGAG-----TAAGCAGTGGTATCAACGCAGA----- 135  
 OFF\_8 ---AACGCAGAG-----TAAGCAGTGGTATCAACGCAGA----- 74  
                   \*\*  \*\* \*\*

OFF\_17 TTAACAATTCCCTCCACGCAGATTCAAAACACAGTACGTGGTAAGCAGTGGTATCAACGC 152  
 OFF\_9 -----AGCAGTGGTATCAACGC 41  
 OFF\_36 -----GTAAGCAGTGGTATCAACGC 155  
 OFF\_8 -----GTAAGCAGTGGTATCAACGC 94  
   \*\*\*\*\*

OFF\_17 AGAGTAAGCAGTGGTATCAACGCAGAGTAAGCAGTGGTATCAACGCAGAGTAAGCAGTGG 212  
 OFF\_9 AGAGTAAGCAGTGGTATCAACGCAGGGTAAGCAGTGGTATCAACACAGAGT----- 92  
 OFF\_36 AGAGTAAGCAGTGGTATCAACGCAGAGTAAGCAGTGGTATCAACGCAGAGTAAGCAGTGG 215  
 OFF\_8 AGAGTAAGCAGTGGTATCAACGCAGGAGCAAGCAGTGGTATCAACGCAGAGT----- 145  
                   \*\*\*\*\* \* \* \*\*\*\*\*

OFF\_17 TATCAACGCAGAGTAAGCAGTGGTATCAACGCAGAGTAAGCAGTGGTAACAACGCAGAGT 272  
 OFF\_9 ----- 275  
 OFF\_36 TATCAACGCAGAGTAAGCAGTGGTATCAACGCAGAGTAAGCAGTGGTATCAAACGCAGAGT 275  
 OFF\_8 -----

OFF\_17 AAGCAGTGGTATCAACGCAGAGTACATGGGCACGCAATGTGATTTCTGCCAGTGCTCTG 332  
 OFF\_9 -----  
 OFF\_36 -----  
 OFF\_8 -----

OFF\_17 AATGTCAAAGTGAAGAAATTCAACCAGGCGCGGTAAACGGCGGGAGTAACTATGACTCT 392  
 OFF\_9 -----  
 OFF\_36 -----  
 OFF\_8 -----

OFF\_17 CTTAAGGTAGCCAAATGCCTCGTCATCTAATTAGTGACCGCATGAATGGATTAAACGAGA 452  
 OFF\_9 -----  
 OFF\_36 -----  
 OFF\_8 -----

OFF\_17 TTCCCACTGTCCCTGTCTACTATCCAGCGAAACCAAGCCAAAGGGAAACGGGCCTTGGCAGA 512  
 OFF\_9 -----  
 OFF\_36 -----  
 OFF\_8 -----

OFF\_17 ATCAGCGGGGAAAAGAACCCTGTTGAGCTTGACTCTAGTCCGACTTTGTGAAATGACTTT 572  
 OFF\_9 -----  
 OFF\_36 -----  
 OFF\_8 -----

OFF\_17 GAGAGGTGTAGTATAAGTGGGAGCCGAAAGGCGAAAGTGAAATACCACTACTTTTAAACGT 632  
 OFF\_9 -----  
 OFF\_36 -----  
 OFF\_8 -----

OFF\_17 TATTTTACTTATTCCGTGAATCGGAGGCGGGGCGCTGCCCTCTTTTGGACCCAAAGGCC 692  
 OFF\_9 -----  
 OFF\_36 -----  
 OFF\_8 -----

OFF\_17 CGTCTCGGCGGGCCGATCCGGGCGGAAGACATTGTCAGGTGGGGAGTTTGGCTGGGGCGG 752  
 OFF\_9 -----  
 OFF\_36 -----  
 OFF\_8 -----

OFF\_17 CACATCTGTTAAAAGATAACGCGAGGTGTCCTAAGATGAGCTCAACGAGAACAGAAATCTC 812  
 OFF\_9 -----  
 OFF\_36 -----  
 OFF\_8 -----

OFF\_17 GTGTGGAACAAAAAGGTAAAAGCTCGTTTGTATTCTGATTTTCAGT 857  
 OFF\_9 -----  
 OFF\_36 -----  
 OFF\_8 -----

Σημείωση: Με αστερίσκο υποδεικνύονται τα κοινά νουκλεοτίδια

Για τις αλληλουχίες OFF21 και OFF32 βρέθηκε ότι η ομολογία τους έχει E-value 3e-131. Παρακάτω φαίνονται τα αποτελέσματα της συστοίχισης των δύο νουκλεοτιδικών αλληλουχιών της δεύτερης ομάδας που παρουσιάζουν ομόλογες περιοχές.

OFF\_21 ATGGGAGAAATGCATTGGATGGATGCCCGGGCATCGAGAAGGAAGGACGCTTTATGAGGCG 60  
 OFF\_32 ATGGG---GTGCATTGGATGGATGCCCGGGCATTTGAGAAGGAAGGACGCTTTATGAGGCG 57  
 \*\*\*\*\*

OFF\_21 AAAGGCCATGGGGAGATACCGTCTGTGATCCATGGATCTCCGATCGGGAAACCGTATCCA 120  
 OFF\_32 AAAGGCCATGGGGAGATACCGTCTGTGATCCATGGATCTCCGATCGGGAAACCGTATCCA 117  
 \*\*\*\*\*

OFF\_21 AGCTCCGTGGCTAGTCTGCGCTCTTTGGACTTTTCAAACTTAGCGAACTGAAACATCTGA 180  
 OFF\_32 AGCTCCGTGGCTAGTCTGCGCTCTTTGGACTTTTCAAACTTAGCGAACTGAAACATCTGA 177  
 \*\*\*\*\*

OFF\_21 GTAGCTAAAGGAAGGGAAATCAACCGAGACCCCGTTAGTAGCGGGCGAGCGAGAGCGGATT 240  
 OFF\_32 GTAGCTAAAGGAAGGGAAATCAACCGAGACCCCGTTAGTAGCGGGCGAGCGAGAGCGGATT 237  
 \*\*\*\*\*

OFF\_21 GGGGGTTTGAAGAAAAA-----AAAAAAAAA 266  
 OFF\_32 GGGGGTTTGAAGAAAAACAAGACGTCCTGTGAGAGCCTCACCAAAAAAAAAAAAAAAAA 297  
 \*\*\*\*\*

OFF\_21 AAAAAAAAAAGT 276  
 OFF\_32 AAAAAAAAAAGT 307  
 \*\*\*\*\*

Σημείωση: Με αστερίσκο υποδεικνύονται τα κοινά νουκλεοτίδια

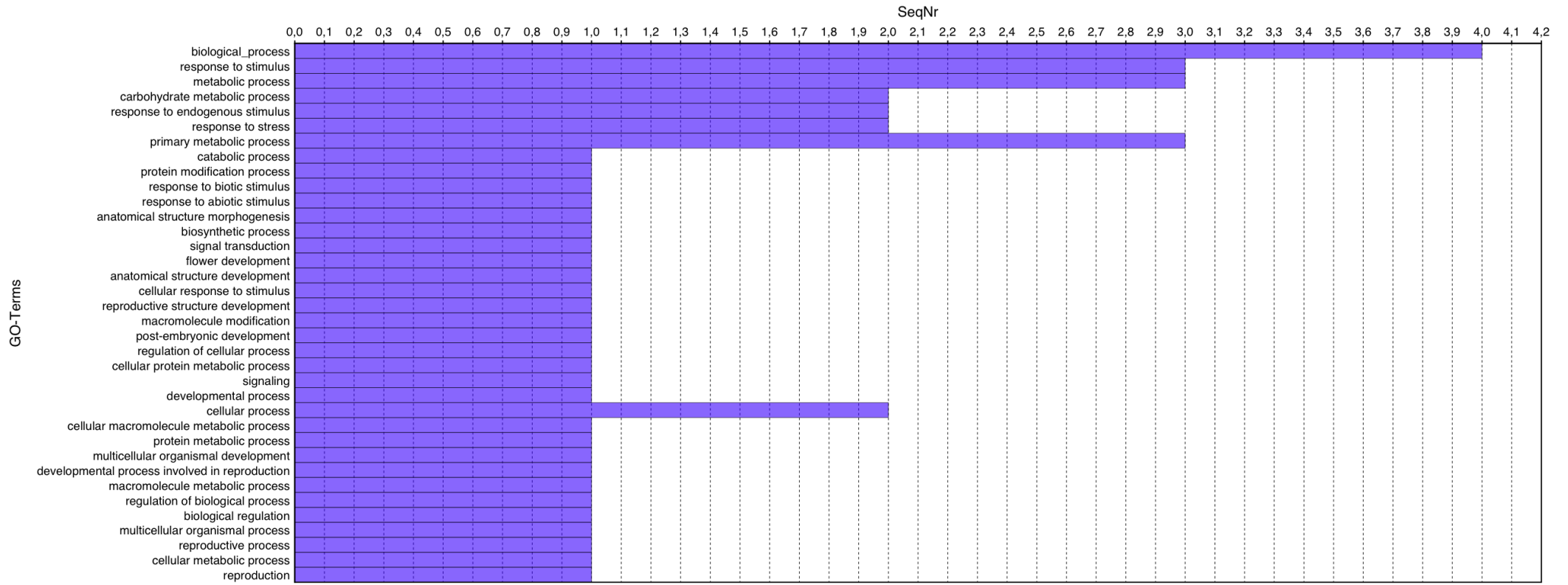
Από τις παραπάνω αναλύσεις φαίνεται ότι οι αλληλουχίες τεσσάρων ενθεμάτων της OFF-ON cDNA βιβλιοθήκης (1<sup>η</sup> ομάδα) παρουσιάζουν υψηλή ομολογία σε μία περιοχή 65 νουκλεοτιδίων με λίγες σημειακές διαφορές και δύο από αυτές (OFF17 και OFF36) σε μια περιοχή 164 νουκλεοτιδίων. Επίσης, δύο άλλες αλληλουχίες (OFF21 και OFF32) (2<sup>η</sup> ομάδα) εμφανίζουν υψηλή ομολογία σε μία περιοχή 258 νουκλεοτιδίων, με μικρές σημειακές διαφορές και μια μεγαλύτερου μεγέθους διαφορά να εμφανίζεται στο 3' άκρο της αλληλουχίας (κοντά στο πολυ-A άκρο).

### 3.4 Βιοπληροφορική ανάλυση των «καθαρών» αλληλουχιών II

Έπειτα από την ολοκλήρωση της παραπάνω ανάλυσης ακολούθησε η αναζήτηση ομόλογων αλληλουχιών των απομονωθέντων αλληλουχιών στις βάσεις δεδομένων Expressed Sequencing Tags (EST), Nucleotide Selection (nr/nt) και στη βάση δεδομένων πρωτεϊνών (χρήση blastx) του NCBI. Στο Παράρτημα (Πιν. 5 έως Πιν. 10) παρουσιάζονται τα αποτελέσματα των ανωτέρω αναλύσεων στις προαναφερόμενες βάσεις δεδομένων.

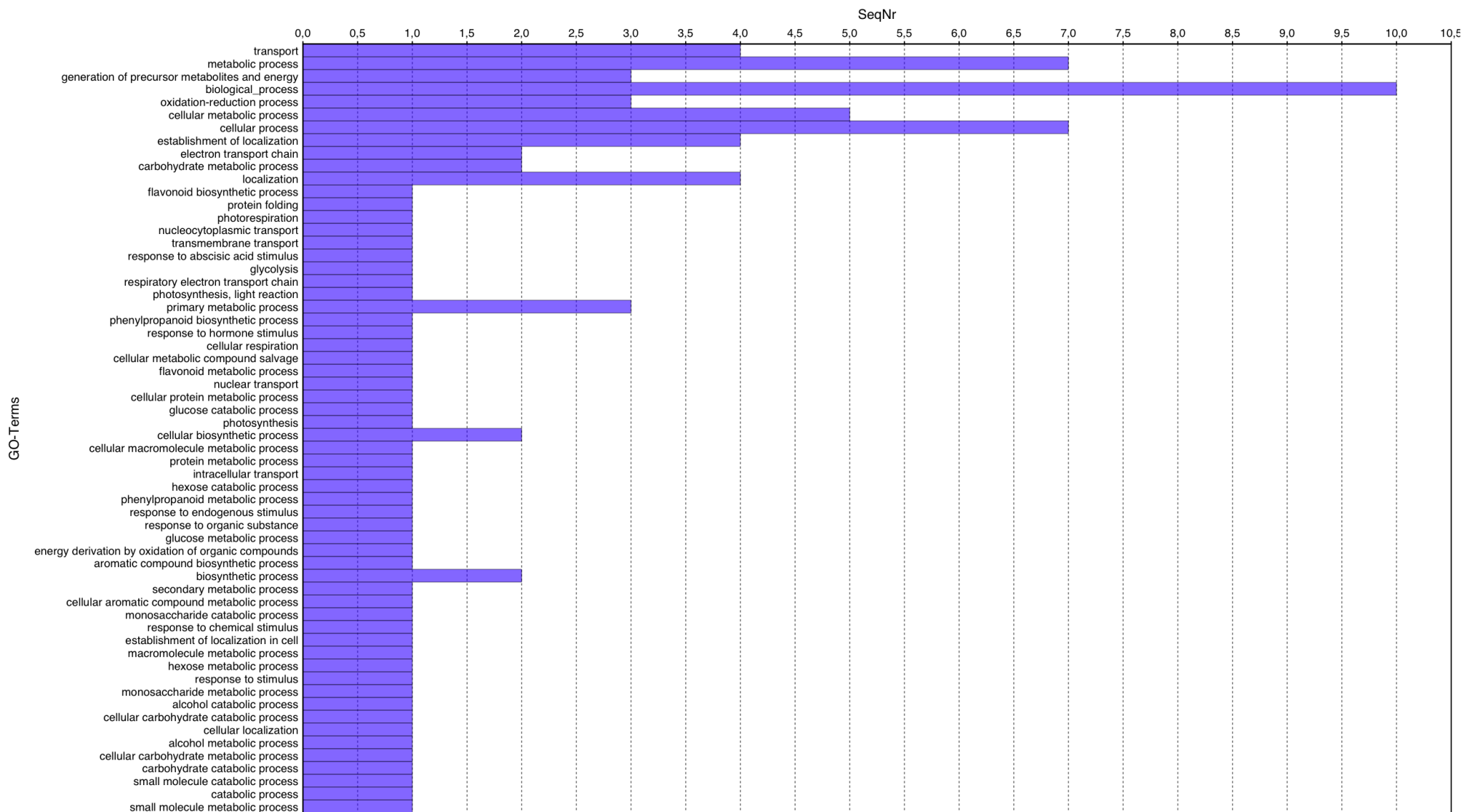
Με τη χρήση του blast2GO v. 2.5.1 (Biobam, Ισπανία) έγινε δυνατός ο προσδιορισμός της κατηγορίας της λειτουργίας της πρωτεΐνης στην οποία πιθανόν να ανήκουν τα αντίστοιχα αλληλουχηθέντα ενθέματα/τμήματα γονιδίων. Παρακάτω εμφανίζονται τα ποσοστά των διαφόρων κατηγοριών λειτουργιών πρωτεϊνών στις οποίες βρέθηκαν να ανήκουν τα αντίστοιχα αλληλουχηθέντα ενθέματα, για τα ON (Εικ. 4) και για τα OFF (Εικ. 5).

### Sequence distribution: biological\_process



**Εικ. 4.** Λειτουργική κατηγοριοποίηση των ESTs για την αφαιρετική βιβλιοθήκη ON-OFF.

### Sequence distribution: biological\_process



Εικ. 5. Λειτουργική κατηγοριοποίηση των ESTs για την αφαιρετική βιβλιοθήκη OFF-ON.



## 4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Σκοπός στην παρούσα μεταπτυχιακή εργασία ήταν ο εντοπισμός γονιδίων που σχετίζονται με την εκδήλωση και εξέλιξη του φαινομένου της οφθαλμόπτωσης της φιστικιάς, που αποτελεί την αιτία της παρενιαντοφορίας που χαρακτηρίζει το συγκεκριμένο είδος. Για το σκοπό αυτό πραγματοποιήθηκε σύγκριση μεταγραφημάτων γονιδίων οφθαλμών φιστικιάς, που φέρονταν σε καρποφορούντες και μη-καρποφορούντες βραχίονες.

Για την επιλογή του κατάλληλου φυτικού υλικού, προηγήθηκε πείραμα αγρού από όπου επιλέχθηκαν ανθοφόροι οφθαλμοί από καρποφορούντες (ON) και μη-καρποφορούντες (OFF) βραχίονες τη χρονική περίοδο επαγωγής του σήματος της οφθαλμόπτωσης (Τσαφούρος κ.σ., 2009). Για τη διερεύνηση των διαφορών στη γονιδιακή έκφραση τη συγκεκριμένη περίοδο μεταξύ των δύο τύπων οφθαλμών, απομονώθηκε ολικό RNA και χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος του κατασταλτικού αφαιρετικού υβριδισμού (K.A.Y.) (PCR Select cDNA Subtraction Kit) για την απομόνωση των διαφορικά εκφραζόμενων γονιδίων (Τσαφούρος κ.σ., 2011).

Επιλέγοντας φυτικό υλικό από δένδρα της ίδιας ποικιλίας (ίδιας γενετικής σύστασης) μειώνεται σε μεγάλο βαθμό η πιθανότητα ύπαρξης γενετικής παραλλακτικότητας μεταξύ των δειγμάτων. Τόσο οι επιδράσεις του περιβάλλοντος (π.χ. ηλιοφάνεια, θερμοκρασία περιβάλλοντος, κ.λπ.) όσο και οι καλλιεργητικές επεμβάσεις (π.χ. άρδευση κ.λπ.) ήταν κοινές για τα δένδρα που χρησιμοποιήθηκαν, οπότε δεν πρέπει να υφίστανται άλλες διαφορές στην έκφραση των γονιδίων πλην αυτών που οφείλονται στις επεμβάσεις του πειράματος.

Τα διαφορικά εκφραζόμενα γονίδια ενισχύθηκαν από PCR και διαχωρίστηκαν σε πηκτή αгарόζης με τις διαφορές στη γονιδιακή έκφραση μεταξύ των δειγμάτων να εμφανίζονται με τη μορφή συνεχούς αποτυπώματος αλλά και ευκρινών ζωνών DNA (Εικ. 2, Πτυχιακή μελέτη, 2010, Τσαφούρος κ.σ., 2011).

Στη μεταπτυχιακή εργασία δημιουργήθηκαν δύο αφαιρετικές βιβλιοθήκες, μια περιέχουσα γονίδια που εκφράζονται σε οφθαλμούς καρποφορούντων βραχιόνων και η άλλη περιέχουσα γονίδια που εκφράζονται σε οφθαλμούς μη-καρποφορούντων βραχιόνων. Ύστερα οι αλληλουχίες των βιβλιοθηκών επεξεργάστηκαν με ειδικό λογισμικό (VecScreen, NCBI) για την απόκτηση των «καθαρών» αλληλουχιών που συνιστώνται στην απουσία τμημάτων του πλασμιδιακού φορέα και των προσαρμοστών που χρησιμοποιήθηκαν κατά την πειραματική διαδικασία του K.A.Y. Συνολικά αποκτήθηκαν 32 τμήματα γονιδίων, 12 από την αφαίρεση ON-OFF και 20 από την αφαίρεση OFF-ON, οι οποίες συγκρίθηκαν με τις καταχωρήσεις της βάσης δεδομένων EST, των νουκελοτιδίων και των πρωτεϊνών. Η ομολογία των «καθαρών» αλληλουχιών με τις καταχωρημένες αλληλουχίες στις βάσεις δεδομένων προσδιορίζεται από την τιμή του E-value στις συγκρίσεις (blast), όπου όσο μικρότερη η τιμή τόσο πιο μικρή πιθανότητα η ομολογία να μην είναι αληθινή.

**Όσον αφορά τις ON αλληλουχίες**, βρέθηκε ομολογία με γονίδια που: α) εκφράζονται σε βότρες αρσενικής και θηλυκής φιστικιάς (ON 20), γεγονός που υποδεικνύει ότι πιθανώς κατά την περίοδο συλλογής των δειγμάτων πραγματοποιούντο κάποιες διεργασίες στις καταβολές των βοστρύχων μέσα στους οφθαλμούς, β) εμπλέκονται σε αβιοτικές καταπονήσεις (ON 4, ON 8, ON 12, ON 13 ON 25, ON 30, ON 33), όπως για παράδειγμα υδατική καταπόνηση (ON 13), γ) εμπλέκονται σε βιοτικές καταπονήσεις όπως χιτινάσες (ON 4), δ) εμπλέκονται στην άμυνα των φυτών, ομολογία με PR4, WIN1, hevein-like και ένας

αναστολέας πρωτεάσης (ON 28), ε) εμπλέκονται στην παραγωγή Ενεργών Μορφών Οξυγόνου και στον προγραμματισμένο κυτταρικό θάνατο (Π.Κ.Θ.) (ON 12), όπως το κυτόχρωμα-c, στ) εμπλέκονται στη μετάδοση σημάτων όπως κινάσες και εστεράσες (ON 13, ON 8) και ζ) εκφράζουν κάποιον υποδοχέα του γιββερελλινικού οξέως (ON 8).

Κατά την περίοδο λήψης του φυτικού υλικού (μέσον καλοκαιριού) πραγματοποιούνται κάποιες διεργασίες στις καταβολές των βοστρύχων στους οφθαλμούς (για το λόγο αυτό και η εύρεση ομολογίας σε καταχώρηση στη βάση δεδομένων) αλλά πιθανόν δεν πραγματοποιούνται διαδικασίες διαφοροποίησης καθώς οι οφθαλμοί διακόπτουν τη διαφοροποίηση τους καλοκαιρινούς μήνες (Ποντίκης, 1996).

Την περίοδο συλλογής (μέσον καλοκαιριού) οι οφθαλμοί βρίσκονται υπό καθεστώς υδατικής καταπόνησης γιατί στα μέσα του καλοκαιριού οι θερμοκρασίες είναι υψηλές και τα φυτά εμφανίζουν υδατικό έλλειμμα. Για το λόγο αυτό θεωρείται αυτονόητο να ανιχνευθούν γονίδια που εμπλέκονται σε υδατική καταπόνηση. Η απομόνωση των γονιδίων αυτών θα μπορούσε να είναι χρήσιμη σε μελλοντικά πειράματα υδατικής καταπόνησης στη φιστικιά.

Αναφορικά με την ομολογία των ESTs της φιστικιάς με γονίδια που σχετίζονται με την άμυνα του φυτού και με βιοτικές καταπονήσεις (PR4, WIN1, hevein-like και αναστολέας πρωτεάσης), οι αναστολείς πρωτεασών είναι σημαντικοί παράγοντες που εμπλέκονται στην άμυνα του φυτού (Koiwa *et al.*, 1997). Επίσης, έχει βρεθεί ότι οι πρωτεΐνες της οικογένειας PR4 αποτελούνται από χιτινάσες (Bravo *et al.*, 2003) και μπορούν να επάγονται και από πολλούς παράγοντες καταπόνησης όπως η ξηρασία, η αλατότητα, ο τραυματισμός, η παρουσία βαρέων μετάλλων και η ύπαρξη φυτικών ρυθμιστών αύξησης (σαλικυλικό οξύ, αιθυλένιο και γιασμονικό οξύ) (Kasprzewska A., 2003). Στα ανώτερα φυτά θεωρείται ότι οι χιτινάσες ασκούν προστατευτική δράση σε περίπτωση μόλυνσεων από μύκητες ενώ μπορεί να επαχθεί η παραγωγή τους και από άλλους παράγοντες όπως ο τραυματισμός, το θερμικό στρες, το αιθυλένιο και το σαλικυλικό οξύ (Kuo *et al.*, 2009). Ωστόσο, οι χιτινάσες στα φυτά μπορεί να εμπλέκονται και σε αναπτυξιακές διαδικασίες. Η έκφραση των χιτινασών μπορεί να ρυθμίζεται αναπτυξιακά και ειδικά ανά όργανο και ιστό. Το ένζυμο είναι παρόν στους ανθήρες, στους στύλους, στα ώριμα φρούτα, στις μικροπύλες των γονιμοποιημένων ανθέων, στα αναπτυσσόμενα έμβρυα και στους οφθαλμούς των κονδύλων. Επίσης, δύνανται να ρυθμίζουν τις διαδικασίες αύξησης και ανάπτυξης προάγοντας ή υποβαθμίζοντας μόρια-σήματα ενώ πιθανώς να εμπλέκεται και στον προγραμματισμένο κυτταρικό θάνατο (programmed cell death, PCD) (Kasprzewska A., 2003).

Εκτός των χιτινασών, οι οποίες πιθανώς να εμπλέκονται στον προγραμματισμένο κυτταρικό θάνατο, εντοπίστηκε ομολογία και με την οξειδάση του κυτοχρώματος-c. Έχει βρεθεί πως η μειωμένη έκφραση της οξειδάσης του κυτοχρώματος-c σχετίζεται με την έκφραση προ-αποπτωτικών (προαγωγέων του Π.Κ.Θ.) γονιδίων και τη συσσώρευση του κυτοχρώματος στο κυτταρόπλασμα (Manon *et al.* 1997). Η παρουσία του κυτοχρώματος-c στο κυτταρόπλασμα αποτελεί παράγοντα παραγωγής Ενεργών Μορφών Οξυγόνου (Reactive Oxygen Species, ROS), γεγονός που οδηγεί στο θάνατό τους (Fleury *et al.*, 2002).

Μια άλλη οικογένεια πρωτεϊνών με μέλη της οποίας βρέθηκε ομολογία είναι η οικογένεια των κινασών. Πιο συγκεκριμένα, βρέθηκε ομολογία με τις κινάσες LRR, RHG4, TMK1, PBS1, αλλά και με κινάσες αδιευκρίνιστης κατηγορίας. Οι κινάσες εμπλέκονται σε πολλές λειτουργίες των οργανισμών, όπως η απόκριση σε διάφορους παράγοντες και

καταστάσεις π.χ. ορμόνες, καταστάσεις παθογένειας, θερμικές καταπονήσεις κ.λπ. (Stone και Walker, 1995; Gou *et al.* 2010). Επίσης, οι κινάσες δύνανται να αναγνωρίσουν και να μεταδώσουν διάφορα σήματα ενεργοποιώντας ή απενεργοποιώντας άλλες κινάσες ή άλλες πρωτεΐνες (Stone και Walker, 1995).

Στη μετάδοση σημάτων μπορούν να συμμετέχουν και πρωτεΐνες της οικογένειας των εστερασών. Ειδικότερα, η καρβοξυλεστεράση (CXE), με την οποία βρέθηκε ομολογία, φαίνεται ότι ρυθμίζει τη μεταφορά των διαφορών μεταβολιτών εντός του φυτικού κυττάρου ενώ φαίνεται πως ρυθμίζει την κίνηση μεταβολιτών μεταξύ των υποκυττάρων τμημάτων και συμμετέχει στη βιοενεργοποίηση των συστατικών των φυτικών σημάτων. Πολλά από τα μόρια που λειτουργούν ως σήματα στα φυτά, αποθηκεύονται σε ανενεργή μορφή συζευγμένα με κάποιον εστέρα με την καρβοξυλεστεράση να ρυθμίζει τη βιολογική τους δραστηριότητα διαμέσου της επιλεκτικής υδρόλυσης τους. Τέτοιες ουσίες είναι το σαλικυλικό οξύ και το γιασμονικό οξύ (γνωστές ουσίες ορμονικής φύσεως) τα οποία αποθηκεύονται με τη μορφή των αντίστοιχων μεθυλεστέρων τους. Και στις δύο περιπτώσεις ο ρόλος της CXE είναι να μετατρέψει τις πρόδρομες αυτές ουσίες σε παράγοντες σήματα.

Εκτός των παραγόντων που λειτουργούν ως σήματα καταπονήσεων, πολλές φυτικές ορμόνες συσσωρεύονται στα φυτά με τη μορφή καρβοξυλεστέρων ή αμιδίων. Για παράδειγμα το ινδολοακετικό οξύ (IAA), το οποίο συζεύγνυται με αμινοξέα και με σάκχαρα, έχει βρεθεί να ενεργοποιείται από την CXE (Gershtater και Edwards, 2007), ενώ στην περίπτωση της φιστικιάς εικάζεται ότι οι αυξίνες ίσως αποτελούν ένα πιθανό σήμα το οποίο εμπλέκεται στην οφθαλμόπτωση (Pontikis, 1990), επομένως, θα μπορούσε η καρβοξυλεστεράση να δρα ως ενεργοποιητής της όλης διαδικασίας. Εκτός των εστερασών στη μετάδοση σημάτων μπορούν να συμβάλλουν και οι υποδοχείς της γιββερελλίνης (π.χ. GID1), στους οποίους προσδένονται τα μόρια του γιββερελλινικού οξέως με αποτέλεσμα την απαρχή μιας σειράς διεργασιών και μετάδοσης σημάτων που οφείλονται στην αλληλεπίδραση αυτή.

Τα παραπάνω αποτελούν ενδείξεις πως κατά την περίοδο της ταχείας πλήρωσης του ενδοκαρπίου οι οφθαλμοί που βρίσκονται σε καρποφορούντες βραχίονες (ON) υφίστανται τη δράση γονιδίων τα οποία φαίνεται πως σχετίζονται με τη μετάδοση ενδογενών σημάτων και επάγονται είτε πρωτογενώς από ορμόνες ή άλλα περιβαλλοντικά σήματα είτε αποτελούν δευτερογενή σήματα αλλά και τη βιοενεργοποίηση μεταβολιτών αλλά και άλλων μορίων στα οποία δύνανται να προσδοθεί βιολογική δράση ύστερα από την ενεργοποίηση αυτή. Επίσης, φαίνεται ότι δρουν προ-αποπτωτικά γονίδια που σχετίζονται με τον προγραμματισμένο κυτταρικό θάνατο τα οποία παράγουν πρωτεΐνες οι οποίες απελευθερώνουν ενεργές μορφές οξυγόνου. Οι συγκεκριμένοι τύποι γονιδίων εκφράζονται στα μιτοχόνδρια και στους χλωροπλάστες, δηλαδή στα οργανίδια εκείνα του κυττάρου τα οποία εμπλέκονται στο βασικό μεταβολισμό και είναι επιφορτισμένα με την παραγωγή και τη διαχείριση ενέργειας.

**Όσον αφορά τις OFF αλληλουχίες**, βρέθηκε ομολογία με γονίδια που: α) εκφράζονται σε βόστρυχους αρσενικής και θηλυκής φιστικιάς (OFF 7), γεγονός που υποδεικνύει ότι πιθανώς κατά την περίοδο συλλογής των δειγμάτων συνέβαιναν κάποιες βιοχημικές διεργασίες εντός των οφθαλμών, β) μεταγράφονται σε εμβρυακούς άξονες, έμβρυα και μεριστωματικά κύτταρα (OFF 47, OFF 30, OFF 33, OF 24, OFF 31), γ) εμπλέκονται σε αβιοτικές καταπονήσεις όπως υδατικό στρες, ανεπάρκεια σιδήρου, θερμική καταπόνηση και αλατότητα (OFF 8, OFF 9, OFF 17, OFF 24, OFF 26, OFF 30, OFF 31, OFF 33, OFF 36,

OFF 47), δ) εμπλέκονται σε βιοτικές καταπονήσεις όπως μυκητολογικές προσβολές (*Marssonia* sp., *Fusarium* sp. κ.λπ.) (OFF 8, OFF 9) και κωδικεύουν πρωτεΐνες αντιμικροβιακής άμυνας όπως polyketide synthase και chalcone synthase (OFF 7), ε) κωδικεύουν πρωτεΐνες οι οποίες σχετίζονται με αναπτυξιακές διαδικασίες όπως extensin και ένδο-1,4-β-γλυκανάση (OFF 13, OFF 29, OFF 33), στ) σχετίζονται με το βασικό μεταβολισμό όπως το γονίδιο της αλδολάσης της διφωσφορικής φρουκτόζης (aldolase fructose-bisphosphate) (OFF 45), ζ) σχετίζονται με το δευτερογενή μεταβολισμό όπως το κυτόχρωμα P450s (OFF 10, OFF 17), η) σχετίζονται με τη μεταφορά νερού και άλλων συστατικών στο κύτταρο όπως γονίδια ακουαπορινών (OFF 35), θ) κωδικεύουν άλλες πλαστιδιακές πρωτεΐνες όπως την αφυδρογονάση του NADH και το σύμπλεγμα της οξειδωδοκτάσης του NADH-ουμπικονόνης (OFF 24, OFF 46) ι) σχετίζονται με τη μετάδοση σημάτων όπως η πρωτεΐνη Ras GTPase-activating protein-binding (OFF 42) και κ) εκφράζονται ύστερα από επεμβάσεις με διάφορες ουσίες π.χ. κυαναμίδη, λαμιναρίνη και σαλικυλικό οξύ (OFF 7, OFF 13, OFF 30, OFF 33).

Από τα παραπάνω υποδηλώνεται ότι κατά την περίοδο λήψης του φυτικού υλικού πραγματοποιούνται κάποιες διεργασίες στις καταβολές των βοστρύχων στους οφθαλμούς κατά τους καλοκαιρινούς μήνες. Αντίστοιχη παρατήρηση έγινε και για το ON δείγμα (βλ. ανωτέρω). Από αυτό μπορεί να υποστηριχθεί ότι είτε έχουμε την έκφραση διαφορετικών γονιδίων στο συγκεκριμένο ιστό είτε ότι τα δύο ESTs που αναλύθηκαν αποτελούν μικρότερα τμήματα του ίδιου μεταγραφήματος τα οποία δεν αφαιρέθηκαν κατά τη διαδικασία του SSH (false-positives). Ακόμη, η ύπαρξη ομόλογων αλληλουχιών οι οποίες εκφράζονται σε μεριστωματικά κύτταρα ίσως υποδεικνύει ότι εντός των OFF οφθαλμών πραγματοποιούνται διεργασίες μεριστωματικού πολλαπλασιασμού οι οποίες δεν πραγματοποιούνται στους ON. Οι οφθαλμοί βρίσκονται υπό καθεστώς υδατικής και θερμικής καταπόνησης κάτι που αποδίδεται στις περιβαλλοντικές συνθήκες κατά το χρόνο λήψης του φυτικού υλικού, αφού συλλέχθηκαν στα μέσα του καλοκαιριού όπου οι θερμοκρασίες είναι υψηλές και τα φυτά εμφανίζουν υδατικό έλλειμμα. Επίσης από την ομολογία με πρωτεΐνη που δραστηριοποιείται σε συνθήκες ανεπάρκειας σιδήρου πιθανολογείται ότι στους OFF οφθαλμούς η ποσότητα σιδήρου να είναι μικρότερη της επιθυμητής. Η ανίχνευση ομολογίας με γονίδια που εκφράζονται σε καταστάσεις αλατότητας υποδηλώνει ότι ο οφθαλμός πιθανόν να εμπεριέχει υψηλή συγκέντρωση αλάτων, ίσως λόγω χαμηλού υδατικού δυναμικού. Υπενθυμίζεται πως κατά τη χρονιά ακαρπίας θεωρείται πως το δένδρο συγκεντρώνει θρεπτικά στοιχεία για την υποστήριξη της παραγωγής της επόμενης χρονιάς.

Αναφορικά με τα γονίδια που κωδικεύουν τις πρωτεΐνες chalcone synthase (CHS) και type III polyketide synthase (PKS) [η οποία αποτελεί μέλος της ευρύτερης προαναφερόμενης οικογένειας (Jez *et al.*, 2002)] σχετίζονται με την αντιμικροβιακή άμυνα διαμέσου της παραγωγής φυτοαλεξινών, την προστασία από την υπερϊώδη ακτινοβολία, την παραγωγή φυτικών ανθοκυανών, τη γονιμότητα της γύρης και το χρωματισμό των ανθικών μερών. Οι chalcone synthases εμπλέκονται στη βιοσύνθεση των φλαβονοειδών και σε άλλα μονοπάτια για την παραγωγή διαφόρων μεταβολιτών (Austin και Noel 2003).

Βρέθηκε ομολογία με το ένζυμο ένδο-1,4-β-γλυκανάση και με πρωτεΐνες της οικογένειας extensin. Οι πρωτεΐνες της οικογένειας extensin έχουν κατά κύριο λόγο δομικό ρόλο στα κυτταρικά τοιχώματα αλλά μπορούν να συμμετέχουν στην ανάπτυξη, στην επώαση

των διαφόρων πληγών και στην άμυνα του φυτού. Οι πρωτεΐνες αυτές μπορεί να βρίσκονται σε διάφορους ιστούς του φυτικού σώματος όπως για παράδειγμα στο κάμβιο και στον ηθμό, ενώ έχουν εντοπιστεί και στο κυτταρικό τοίχωμα της γύρης και του εμβρύου (Showalter, 1993). Τα γονίδια τα οποία έχουν ταυτοποιηθεί και σχετίζονται με το συγκεκριμένο ένζυμο σχετίζονται με διαφορετικά αναπτυξιακά στάδια του φυτού όπως η επιμήκυνση, η ωρίμανση και η αποκοπή. Δραστηριότητα γλυκανασών έχει βρεθεί σε όλα τα φυτικά όργανα, αλλά παρόλα αυτά, υψηλά επίπεδα αυτής της δραστηριότητας σχετίζονται με συγκεκριμένες αναπτυξιακές διαδικασίες, οι οποίες εμπλέκουν την τροποποίηση των κατασκευών του κυτταρικού τοιχώματος, ενώ έχει βρεθεί πως οι αναπτυξιακά ρυθμιζόμενες τροποποιήσεις ρυθμίζονται από ορμονικές αλλαγές (Levy *et al.*, 2002).

Εκτός των πρωτεϊνών που σχετίζονται με αναπτυξιακές διαδικασίες βρέθηκαν και ομολογίες με πρωτεΐνες οι οποίες συμμετέχουν στον κυτταρικό μεταβολισμό (βασικό και δευτερογενή). Ομολογία βρέθηκε με ένα ένζυμο που εμπλέκεται στο βασικό μεταβολισμό είναι η αλδολάση της διφωσφορικής φρουκτόζης (aldolase fructose-bisphosphate), η οποία συμμετέχει στον κύκλο του Calvin στο χλωροπλάστη, στη γλυκόλυση και στη γλυκονογένεση (Plaumann *et al.*, 1997). Στο δευτερογενή μεταβολισμό εμπλέκεται η πρωτεΐνη κυτόχρωμα P450s. Αυτό αποτελεί μια μεγαλύτερη οικογένεια ενζύμων η οποία καταλύει την οξειδωση διαφόρων συστατικών μικρού μοριακού βάρους και συμμετέχει στη παραγωγή φυτορμονών και στον καταβολισμό (Kushiro *et al.*, 2004). Επίσης συμμετέχει στην καταστροφή των ξενοβιοτικών και στην παραγωγή δομικών συστατικών για τον οργανισμό (Werck-Reichhart και Feyereisen, 2000).

Επίσης, βρέθηκε ομολογία με πρωτεΐνες εσωτερικών μεμβρανών και πιο συγκεκριμένα με ακουαπορίνες. Οι PP2 ανήκουν στις πρωτεΐνες των εσωτερικών μεμβρανών του πλάσματος (Vandeleur *et al.*, 2009) και ο βασικός ρόλος τους είναι η λήψη νερού, ενώ μπορούν να συμβάλουν και στη μεταφορά διαφόρων άλλων διαλυτών και διαλυμένων ουσιών ρυθμίζοντας έτσι την ωσμωτική πίεση (Schaffner, 1998). Οι διάφορες ισομορφές των ακουαπορινών μπορούν να μεταφέρουν εκτός από νερό και άλλα μόρια με αποτέλεσμα να εμπλέκονται σε πολλές λειτουργίες όπως είναι η θρεπτική πρόσληψη, οι αποκρίσεις στις καταπονήσεις και η ανταλλαγή σημάτων μεταξύ κυττάρων (Mauerl, 2007).

Εκτός της πρωτεΐνης που βρέθηκε και δρα στους χλωροπλάστες βρέθηκαν και άλλες πλαστιδιακές πρωτεΐνες όπως το σύμπλεγμα ETC I της αφυδρογονάσης του NADH και η οξειρεδουκτάση της πλαστοκινόνης του NADH. Η αφυδρογονάση του NADH συμμετέχει στην αναπνευστική αλυσίδα μεταφοράς ηλεκτρονίων στα μιτοχόνδρια. Τέλος, μια αλληλουχία βρέθηκε ομόλογη με το σύμπλεγμα της οξειρεδουκτάσης της πλαστοκινόνης του NADH. Η πρωτεΐνη αυτή δεν είναι απαραίτητη για τη βιωσιμότητα του οργανισμού, αλλά συνεισφέρει σε περιπτώσεις καταπόνησης όπως υδατική καταπόνηση, θερμική καταπόνηση ή καταπόνηση υψηλής έντασης ακτινοβολία (Guéra και Sabater, 2002).

Μια οικογένεια πρωτεϊνών με την οποία βρέθηκε ομολογία και εμπλέκεται στη μετάδοση σημάτων στο κύτταρο με τις διάφορες ενεργές περιοχές που διαθέτει π.χ. την NTF2 (nuclear transport factor 2) και τη SH3 (Src homology) είναι και η οικογένεια πρωτεϊνών Ras GTPase-activating protein-binding η οποία περιλαμβάνει και πρωτεΐνες οι οποίες εμπλέκονται στη ρύθμιση της αρρενοστειρότητας στο σιτάρι (Zhou *et al.*, 2011; Gallouzi *et al.*, 1998).

Τέλος, η ομολογία με αλληλουχίες που εκφράζονται ύστερα από επέμβαση με κυαναμίδη και λαμιναρίνη είναι αρκετά ενδιαφέρονσα. Έχει βρεθεί πως η κυαναμίδη διεγείρει τη βλαστική ανάπτυξη του οφθαλμού (Williamson και Maust, 2001) ενώ η λαμιναρίνη προκαλεί τη παραγωγή φυτοαλεξινών, ενισχύει την άμυνα του φυτού σε περίπτωση μολύνσεων από μύκητες ενώ δεν επάγει τον κυτταρικό θάνατο (Aziz *et al.* 2003). Στο παρακάτω πίνακα (Πιν. 3) εμφανίζονται συνοπτικά η λειτουργική κατηγοριοποίηση των ομόλογων πρωτεϊνών των γονιδίων και η ονομασία της αντίστοιχης πρωτεΐνης, καθώς επίσης και ομολογίες γονιδίων με άλλα τα οποία έχουν βρεθεί να εκφράζονται σε συγκεκριμένα φυτικά μέρη και ύστερα από συγκεκριμένες επεμβάσεις.

**Πίνακας 3.** Συνοπτική παρουσίαση της λειτουργικής κατηγοριοποίησης των ομόλογων πρωτεϊνών, ονομασίες των αντίστοιχων πρωτεϊνών και ομολογίες γονιδίων τα οποία εκφράζονται σε συγκεκριμένα φυτικά μέρη και ύστερα από συγκεκριμένες επεμβάσεις.

Λειτουργική κατηγοριοποίηση	Πρωτεΐνες
Αφαίρεση ON-OFF	
Προγραμματισμένος Κυτταρικός Θάνατος (Π. Κ. Θ.)	Οξειδάση του κυτοχρώματος c, χιτινάσες
Μετάδοση σημάτων	Κινάσες, Καρβοξυλεστεράση (CXE), Υποδοχέας γιββερελλινικού οξέως (GID1)
Καταπόνηση από βιοτικούς παράγοντες και αντιμικροβιακή άμυνα	Χιτινάσες, αναστολέας πρωτεάσης, PR4
Καταπόνηση από αβιοτικούς παράγοντες	
Αφαίρεση OFF-ON	
Βιοτική και Αβιοτική καταπόνηση	Chalcone synthase, polyketide synthase
Αναπτυξιακές διαδικασίες	Extensin, ένδο-1,4-β-γλυκανάση
Μεταβολισμός	Αλδολάση της διφωσφορικής φρουκτόζης, κυτόχρωμα P450
Μετάδοση σημάτων	Ras GTPase-activating
Ακουαπορίνες	PP2
Πλαστιδιακές πρωτεΐνες	ETC I της αφυδρογονάσης του NADH, οξειρεδοουκτάση της πλαστοκινόνης του NADH
Επεμβάσεις με διάφορες τις ουσίες κυαναμίδη και λαμιναρίνη	
Βότρες φιστικιάς, έμβρυα και μεριστωματικά κύτταρα	

Τα παραπάνω αποτελούν ενδείξεις πως κατά την περίοδο της ταχείας πλήρωσης του ενδοκαρπίου οι οφθαλμοί που βρίσκονται σε μη καρποφορούντες βραχίονες (OFF) υφίστανται τη δράση γονιδίων τα οποία βοηθούν στη διαφοροποίηση και ανάπτυξη του οφθαλμού. Η θρέψη του οφθαλμού επηρεάζεται από τη δράση των ακουαπορινών και η δράση των δομικών πρωτεϊνών δύναται να εξασφαλίζουν την απρόσκοπτη ανάπτυξη των

οφθαλμών. Η εύρεση γονιδίου το οποίο σχετίζεται με τη φωτοσύνθεση υποδεικνύει πως οι οφθαλμοί μπορούν να φωτοσυνθέσουν και να συνεισφέρουν στη θρέψη τους, ενώ η έκφραση μιτοχονδριακών πρωτεϊνών της αναπνευστικής αλυσίδας μεταφοράς ηλεκτρονίων υποδεικνύει ότι υπάρχει και επαρκής τροφοδοσία σε φωτοσυνθετικά προϊόντα. Επίσης, σημαντικό είναι και το γεγονός της ομολογίας με γονίδια τα οποία εκφράζονται σε περιπτώσεις εφαρμογής ουσιών οι οποίες ενισχύουν τη βλαστική ανάπτυξη και δεν επάγουν τον κυτταρικό θάνατο καθώς σε σύγκριση με τους ON οφθαλμούς δείχνει ότι βρίσκονται σε διαφορετική φυσιολογική κατάσταση.

Ως άμεση συνέχεια της μελέτης κρίνεται η επιβεβαίωση των ευρημάτων που αποκτήθηκαν με τη χρήση της τεχνικής του κατασταλτικού αφαιρετικού υβριδισμού. Για την επιβεβαίωση των αποτελεσμάτων είναι απαραίτητη η απόρριψη, εάν υπάρχουν, των εσφαλμένα θετικών αλληλουχιών (false positives) από τις αφαιρετικές βιβλιοθήκες με τη μέθοδο του αντίστροφου στυπώματος κατά Northern (reverse Northern blot) και ο προσδιορισμός της ποσοτικής έκφρασης των διαφορεικά εκφραζόμενων γονιδίων που πιθανόν να εμπλέκονται στην οφθαλμόπτωση με την τεχνική της Real Time PCR.

## 5. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Agron P. G., Macht M., Radnedge L., Skowronski E. W., Miller W. και Andersen G. L. (2002). Use of subtractive hybridization for comprehensive surveys of prokaryotic genome differences. *Microbiology Letters* 211: 175-182.
2. Amiri, M. E. (2009). Physiological influence of N in preventing of alternate-bearing of pistachio (*Pistacia vera* cv. Kalleh-ghuchi. *Journal of Food, Agriculture & Environment* 7: 301-305.
3. Anonymous 1. (2008). Clontech. PCR<sup>TM</sup> Select cDNA Subtraction Kit User Manual. <http://www.clontech.com/images/pt/PT1117-1.pdf>
4. Anonymous 2. (2004). <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/About/primer/est.html>
5. Anonymous 3. (2004). <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/About/primer/bioinformatics.html>
6. Anonymous 4 (2012). <http://www.plantgdb.org/search/misc/plantlistconstruction.php?mySpecies=Pistacia%20vera>
7. Anonymous 5.(2010). [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/VecScreen/VecScreen\\_docs.html](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/VecScreen/VecScreen_docs.html)
8. Anonymous 6. (2009). Promega. pGEM®-T and pGEM®-T Easy Vector Systems Technical Manual. <http://www.promega.com/tbs/tm042/tm042.pdf>
9. Anonymous 7. (2006). Invitrogen. DH5a Competent Cells. <http://tools.invitrogen.com/content/sfs/manuals/18263012.pdf>
10. Anonymous 8. (2009). Promega. Wizard® Plus SV Miniprepes DNA Purification System. <http://www.promega.com/tbs/tb225/tb225.pdf>
11. Austin M. B. και Noel J. P. (2003). The chalcone synthase superfamily of type III polyketide synthases. *Natural Products Report* 20:79-110.
12. Aziz A, Poinsot B, Daire X, Adrian M, Bézier A, Lambert B, Joubert JM, Pugin A. (2003). Laminarin elicits defense responses in grapevine and induces protection against *Botrytis cinerea* and *Plasmopara viticola*. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 16: 1118-28.
13. Baninasab B., Rahemi M. και Shariatmadari, H. (2007). Seasonal changes in mineral content of different organs in the alternate bearing of pistachio trees. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 38: 241-258.
14. Bouchez D. και Hofte H. (1998). Functional Genomics in Plants. *Plant Physiology* 118: 725–732.
15. Bravo M. J., Campo S., Murillo I., Coca M. και Segundo S. B. (2003). Fungus- and wound-induced accumulation of mRNA containing a class II chitinase of the pathogenesis-related protein 4 (PR-4) family of maize. *Plant Molecular Biology* 52: 745-759.
16. Casals F., Idaghdour Y., Hussin J., Awadalla P. (2012). Next-generation sequencing approaches for genetic mapping of complex diseases. *Journal of Neuroimmunology* doi:10.1016/j.jneuroim.2011.12.017.
17. Christoffels A., Gelder v. A., Greyling G., Miller R., Hide T. and Hide W. (2001). STACK: Sequence Tag Alignment and Consensus Knowledgebase. *Nucleic Acids Research* 29: 234-238.
18. Claverie J.-M και Notredame C. (2007). *Bioinformatics for Dummies 2<sup>nd</sup> Edition*. Indianapolis United States of America. Wiley-Publishing. ISBN: 978-0-470-08985-9.
19. Conesa A. και Gotz S. (2009). Blast2GO Tutorial. Bioinformatics and Genomics Department, Prince Felipe Research Center. Valencia, Spain, pp. 2.
20. Crane J.C. και Iwakiri B.T. (1987). Reconsideration of the cause of inflorescence bud abscission in pistachio. *HortScience* 22: 1315–1316.
21. Diatchenko L., Lau Y. F., Campbell A. P., Chenchik A., Moqadam F., Huang B., Lukyanov S, Lukyanov K, Gurskaya N, Sverdlov E. D. και Siebert P. D. (1996). Suppression subtractive hybridization: a method for generating differentially regulated or tissue-specific cDNA probes and libraries. *Proceedings National Academy of Sciences* 93: 6025–6030.



22. Durzan D. J. (1996). Nitrogen allocation during female bud abscission in alternate bearing of pistachio. *Advances in Horticultural Science* 10: 219-225.
23. Esmailpour A. και Khezri M. (2006). Abscission of inflorescence buds as affected by genetic characteristics in some iranian commercial pistachio cultivars. *International Journal of Agriculture and Biology* 8: 360-362 .
24. Fleury C., Mignotte B, Vayssière J. (2002). Mitochondrial reactive oxygen species in cell death signaling. *Biochimie* 84: 131–141
25. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). FAOSTAT-Agriculture. <http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx>
26. Franca T. C. Lilian, Carrilho Emanuel and Kist Tarso B. L. (2002). A review of DNA sequencing techniques. *Quarterly Reviews Biophysics* 35: 169–200.
27. Gallouzi I., Parker F., Chebli K., Maurier F., Labourier E., Barlat I., Capony J., Tocque B. και Tazi J. (1998). A novel Phosphorylation-dependent RNase Activity of GAP-SH3 Binding Protein: a potential link between signal transduction and RNA stability. *Molecular and Cellular Biology* 3956–3965.
28. Gasic K., Hernandez A. και Korban S. S. (2004). RNA extraction from different apple tissues rich in polyphenols and polysaccharides for cDNA library construction. *Plant Molecular Reporter* 22: 437a-437g.
29. Gershater C. M., Edwards R. (2007). Regulating biological activity in plants with carboxylesterases. *Plant Science* 173: 579–588.
30. Goossens A., Laakso I., Seppa T., Biondi S., De Sutter V., Lammertyn F., Nuutila A., Derlund H., Zabeau M., Inze D. και Caldentey K. (2003). A functional genomics approach toward the understanding of secondary metabolism in plant cells. *PNAS* 100 : 8595–8600
31. Gou X., He K., Yang H., Yuan T., Lin H., Clouse S., Li J. (2010). Genome-wide cloning and sequence analysis of leucine-rich repeat receptor-like protein kinase genes in *Arabidopsis thaliana*. *BMC Genomics* 11: 19
32. Guan B., Jiang G., Wang Y., Wang Z., Haxim Y., Bao Q., Hu Y., Zhang F. και Wang Y. (2010). Identification of differentially expressed transcripts involed in the salt-stress response of *Salsola ferganica* by suppression subtractive hybridization. *Plant Cell Tissue Organ Culture* doi: 10.1007/s11240-010-9787-4.
33. Guéra A. και Sabater B. (2002). Changes in the protein and activity levels of the plastid NADH-plastoquinone–oxidoreductase complex during fruit development. *Plant Physiology and Biochemistry* 40: 423–429.
34. Holtorf H., Guitton M., Reski R. (2002). Plant functional genomics. *Naturwissenschaften* 89: 235–249.
35. Hormaza J.I. και Wunsch A. (2011) Pistacia. In: Wild Crop Relatives: Genomic and Breeding Resources Temperate Fruits pp: 119-128. Edited by Kole C. Springer-Verlag Berlin Heidelberg
36. Huang X., Li Y., Niu Q. και Zhang K. (2007). Suppression Subtractive Hybridization (SSH) and its modifications in microbiological research. *Applied Microbiology and Biotechnology* 76: 753–760, DOI 10.1007/s00253-007-1076-8.
37. Jez M. J., Bowman M. E. και Noel P. J. (2002). Expanding the biosynthetic repertoire of plant type III polyketide synthases by altering starter molecule specificity. *PNAS* 99: 5319-5324.
38. Ji W., Wright M. B., Cai L., Flament A. και Lindpaintner K. (2002). Efficacy of SSH PCR in isolating differentially expressed genes. *BMC Genomics* 3: 12.
39. Kasprzewska A. (2003). Plant chitinases – regulation and function. *Cellular Molecular Biology Letter* 8: 809- 824.

40. Khezria M., Talaiea A., Javanshab A. και Hadavib F. (2010). Effect of exogenous application of free polyamines on physiological disorders and yield of 'Kaleh-Ghoochi' pistachio shoots (*Pistacia vera* L.). *Scientia Horticulturae* 125: 270-276.
41. Koiwa H., Bressan R. A., Hasegawa P.M. (1997). Regulation of protease inhibitors and plant defense. *Trends in Plant Science* 2: 379–384.
42. Kuo C., Huang L., Liao Y., Chang C. και Sung H. (2009). Biochemical characterization of a novel chitotriosidase from suspension-cultured bamboo (*Bambusa oldhamii*) cells. *Botanical Studies* 50: 281-289.
43. Kushiro T., Okamoto M., Nakabayashi K., Yamagishi K., Kitamura S., Asami T., Hirai N., Koshiba T., Kamiya Y. και Nambara E. (2004). The Arabidopsis cytochrome P450 CYP707A encodes ABA 80-hydroxylases: key enzymes in ABA catabolism. *The EMBO Journal* 23: 1647–1656.
44. Levy I., Shani Z. και Shoseyov O. (2002). Modification of polysaccharides and plant cell wall by endo-1,4-β-glucanase and cellulose-binding domains. *Biomolecular Engineering* 19: 17–30.
45. Licciardello C., Russo M. P., Vale G. και Recupero R. G. (2008). Identification of differentially expressed genes in the flesh of blood and common oranges. *Tree Genetics and Genomes* 4: 315-331.
46. Lovatt C. J., Ferguson L. και Daoudi H. (2006). Efficacy of foliar-applied cytokinins and nitrogen to increase floral bud retention and to reduce alternate bearing of pistachio. *Acta Horticulturae* 727: 353-364.
47. Maniatis (2001). *Molecular Cloning*. Cold Spring Harbor Laboratory Press. Chapter 1, Protocol 1.
48. Manon S., Chaudhuri B., Guérin M. (1997). Release of cytochrome c and decrease of cytochrome c oxidase in Bax-expressing yeast cells, and prevention of these effects by coexpression of BC1-XL. *FEBS Letters* 415: 29-32.
49. Maurel C. (2007). Plant aquaporins: Novel functions and regulation properties. *FEBS Letters* 581: 2227–2236.
50. Nowrousian M. (2010). Next-Generation Sequencing Techniques for Eukaryotic Microorganisms: Sequencing-Based Solutions to Biological Problems. *Eukaryotic Cell*, 9: 1300. DOI: 10.1128/EC.00123-10.
51. Ogata Y. και Suzuki H. (2011). Plant expressed sequence tags databases: practical uses and the improvement of their searches using network module analysis. *Plant Biotechnology* 28: 351–360, DOI: 10.5511/plantbiotechnology.11.0818a
52. Onay A. , Işikalan Ç. και Adiyaman F. (2004) *Pistacia vera* (Pistachio). In: *Biotechnology of Fruit and Nut Crops*. Biotechnology in Agriculture Series, No.29.pp:62-72. Edited by R.E. Litz. CABI Publishing.
53. Parfitt D.E., Kafkas S., Batlle I., Vargas F.J. Kallsen C.E. (2012). Pistachio. A: Badenes M.L., Byrne, D.H. (eds.). *Fruit Breeding*. New York: Springer, 803-826 (Handbook of Plant Breeding; 8 ) DOI: 10.1007/978-1-4419-0763-9\_21
54. Perteu G., Huang X., Liang F., Antonescu V., Sultana R., Karamycheva S., Lee Y., White J., Cheung F., Parvizi B., Tsai J. και Quackenbush J. (2003). TIGR Gene Indices clustering tools (TGICL): a software system for fast clustering of large EST datasets. *Bioinformatics Applications Note* 19 (5): 651-652. DOI: 10.1093/bioinformatics/btg034
55. Picardi E., Mignone F. και Pesole G. (2009). EasyCluster: a fast and efficient gene-oriented clustering tool for large-scale transcriptome data. *BMC Bioinformatics* 10: 10.

56. Plaumann M., Pelzer-Reith B., Martin W. F., και Schnarrenberger C. (1997). Multiple recruitment of class-I aldolase to chloroplasts and eubacterial origin of eukaryotic class-II aldolases revealed by cDNAs from *Euglena gracilis* *Current Genetics* 31: 430–438.
57. Pontikis, C.A. (1990). Effects of 2-naphthaleneacetic acid on alternate bearing of pistachio. *Fruits* 45: 281-285.
58. Rebrikov D. V., Britanova O. G., Gurskaya N. G., Lukyanov K. A., Tarabykin V. S., και Lukyanov S. A. (2000). Mirror orientation selection (MOS): a method for eliminating false positive clones from libraries generated by suppression subtractive hybridization. *Nucleic Acid Research* 28: e90.
59. Rosecrance R. C., Weinbaum S. A. και Brown P. H. (1998). Alternate bearing affects nitrogen, phosphorus, potassium and starch storage pools in mature pistachio trees. *Annals of Botany* 82: 463–470.
60. Rosecrance R. C., Weinbaum S. A., Brown P. H. (1996). Assessment of nitrogen, phosphorous, and potassium uptake capacity and root growth in mature alternate-bearing pistachio (*Pistacia vera*) trees. *Tree Physiology* 16: 949–956.
61. Roussos P. A., Pontikis C. A. και Zoti M. A. (2004). The role of free polyamines in the alternate-bearing of pistachio (*Pistacia vera* cv. Pontikis). *Trees* 18: 61–69.
62. Schaffner R. A. (1998). Aquaporin function, structure, and expression: Are there more surprises to surface in water relations? *Planta* 204: 131-139.
63. Shen Y. and Burger G. (2010). TESTLoc: protein subcellular localization prediction from EST data. *BMC Bioinformatics* 11: 563-574.
64. Shi O. C., Ingvaridsen C., Thummler F., Albrecht E. (2005). Identification by suppression subtractive hybridization of genes that are differentially expressed between near-isogenic maize lines in association with Sugarcane Mosaic Virus resistance. *Molecular Genetics and Genomics* 273: 450-461.
65. Showalter M. A. (1993). Structure and Function of Plant Cell Wall Proteins. *The Plant Cell* 5: 9-23.
66. Spann M. T., Bedee H. R. και Dejong M T. (2008). Seasonal carbohydrate storage and mobilization in bearing and non-bearing pistachio trees. *Tree Physiology* 28: 207-213.
67. Stone J. M. και Walker J. C. (1995). Plant protein kinase families and signal transduction. *Plant Physiology* 108: 451-457
68. Talaie A., Seyedi M., Panahi B. και Khezri M. (2006). Effects of shoot girdling and urea combined with 6-benzyl adenine on abscission of inflorescence buds in “Ohadi” pistachio cultivar (*Pistacia vera* L.). *International Journal of Agriculture & Biology* 8: 474–476.
69. Tavares B. A. και Adashi Y. E. (2002). Differential screening technology in the service of ovarian biology. *Reviews in Endocrine & Metabolic Disorders* 3: 13-18.
70. Teufel A., Krupp M., Weinmann A. και Galle P. (2006). Current bioinformatics tools in genomic biomedical research (Review). *International Journal of Molecular Medicine* 17: 967-973.
71. Vandeleur K. R., Mayo G., Sheldon C. M., Gilliham M., Kaiser N. B. και Tyerman D. S. (2009). The role of plasma membrane intrinsic protein aquaporins in water transport through roots: Diurnal and drought stress responses reveal different strategies between isohydric and anisohydric cultivars of grapevine. *Plant Physiology* 149: 445–460.
72. Varshney K. R., Nayak N. S., May D. G. και Jackson A. S. (2009). Next-generation sequencing technologies and their implications for crop genetics and breeding. *Trends in Biotechnology* 27: 522-530.

73. Vemmos S. N. (2005). Effects of shoot girdling on bud abscission, carbohydrate and nutrient concentrations in pistachio (*Pistacia vera* L.). *Journal of Horticultural Science & Biotechnology* 80: 529-536.
74. Vemmos S. N., Pontikis C.A. και Tolia-Marioli A. P. (1994). Respiration rate and ethylene production in inflorescence buds of pistachio in relation to alternate bearing. *Scientia Horticulturae* 57: 165-172.
75. Vemmos S.N. (2010). Alternate bearing and the possible role of carbohydrates in bud abscission of pistachio (*Pistacia vera* L.). *Options Méditerranéennes*. 94: 9-18. XIV GREMPA Meeting on Pistachios and Almonds.
76. Werck-Reichhart D. και Feyereisen R. (2000). Cytochromes P450: a success story. *Genome Biology* 1: 3003.1–3003.9.
77. Wilhelm J. A. (2009). Next-generation DNA sequencing techniques. *New Biotechnology* 25 : 195-203.
78. Williamson J.G. και Maust B.E. (2001). Timing and Concentration of Hydrogen Cyanamide Affect Blueberry Bud Development and Flower Mortality. *HortScience* 36: 922–924.
79. Wolfsberg G. T. και Landsman D. (1997). A comparison of expressed sequence tags (ESTs) to human genomic sequences. *Nucleic Acids Research* 25: 1626–1632.
80. Wolpert J. A., Ferguson L. (1990). Inflorescence bud retention in ‘Kerman’ pistachio: effects of defruiting date and branch size. *HortScience* 25: 919–921.
81. Xuxia W., Jie C., Bo W., Lijun L., Hui J., Diluo T. και Dingxiang P. (2011). Characterization by suppression subtractive hybridization of transcripts that are differentially expressed in leaves of anthracnose-resistant Ramie cultivar. *Plant Molecular Biology Reporter* pp. 1-9. DOI 10.1007/s11105-011-0361-y
82. Yao YG και Ni ZF (2005). Identification of differentially expressed genes in leaf and root between wheat hybrid and its parental inbreds using PCR-based cDNA subtraction. *Plant Molecular Biology* 58:367–384.
83. Zhou L., Song G., He B., Hu Y. (2011). A ras GTPase-activating protein-binding protein, TaG3BP, associated with the modulation of male fertility in a thermo-sensitive cytoplasmic male sterile wheat line. *Molecular Genetics & Genomics* 286: 417–431.
84. Ποντίκης Κ. Α. (1996). Ειδική δένδροκομία: Ακρόδρυα, Πυρηνόκαρπα, λοιπά καρποφόρα. *Εκδόσεις Αθ. Σταμούλης*. ISBN: 960-351-080-7.
85. Τσαφούρος Αθ. Ν. (2010). Χρονικός εντοπισμός του σήματος επαγωγής και διαφορική έκφραση γονιδίων στην οφθαλμόπτωση της φιστικιάς. Πτυχιακή Μελέτη. Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών. Αθήνα 2010.
86. Τσαφούρος Αθ., Κουτσιουμάρη Ε., Ρούσσοι Π., Βολουδάκης Α. (2011). Διαφορική έκφραση γονιδίων στην οφθαλμόπτωση στη φιστικιά. Τεύχος Περιλήψεων 25<sup>ου</sup> Πανελληνίου Συνεδρίου της ΕΕΕΟ. Λεμεσός. Σελ 155.
87. Τσαφούρος Αθ., Ρούσσοι Π., Βολουδάκης Α. (2009). Επίδραση της καρποφορίας στην οφθαλμόπτωση της φιστικιάς. Πρακτικά του 24<sup>ου</sup> Πανελληνίου Συνεδρίου της ΕΕΕΟ. Βέροια. Σελ 149-152.
88. Υπουργείο Αγροτικής Ανάπτυξης και Τροφίμων. Διεύθυνση Αγροτικής Πολιτικής & Τεκμηρίωσης. Τμήμα Τεκμηρίωσης. [http://www.minagric.gr/greek/agro\\_pol/fistikia.htm](http://www.minagric.gr/greek/agro_pol/fistikia.htm)

## 6. ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

**Πίνακας 3.** «Καθαρές» αλληλουχίες που αποκτήθηκαν από την αφαιρετική cDNA βιβλιοθήκη ON-OFF.

Σημειώνεται ότι για την απόκτηση «καθαρών» αλληλουχιών έγινε χρήση του λογισμικού VecScreen (NCBI). Επίσης ο αριθμός δίπλα από τον τύπο της βιβλιοθήκης αντιστοιχεί στον αύξοντα αριθμό που χαρακτήριζε την αποικία στο πιάτο συλλογής.

A/A	Όνομα αποικίας	Μέγεθος (bp)	Αλληλουχία
1	ON 20	114	ACAAGTCTCCACCACCAGTTCACAAGTCTCCCCACCACCACCAGTTTACAAGTCTCCTCCTCCACCGGTGCACAAGTCCCCACCACCACCAACACCGAATAAGCCCTACAAGT
2	ON 26	219	ACTGAGAAGTCATTGTGGGAGCCATAGGCTGAGTGTAGTATATCTGTGCATGAGCAGGATCTGCAAATTCATAACCATAAATTAGTCGTTGCCGCTGCAGAAGTAGGGAGCAGCAACAGACTGGGATGGATGATGAATCTGCGCATAACCAACATACGGCTGTTGATGCTGACTAGCAGGCACTTGGACCAATTGGGGAGCACCTGTAGTTGCAGTTCCTGT
3	ON 16	245	ACATGGGGAAAGTCACTTCATTTCTTAATAATCTTCTCTGCAAATTGATATACATTTGCCCTACATTTTGTCTCCAAATATCTTTTCATGGCTTCTTTGAGCAAAACCGCTCTCATTTTTCTCTTGTGATCACAATCTTCTGTATACCCCTCTTTGGAAGGAAGAAAGGTCTTAAGCTTAAGTTTTGGAGAAAATAAAGGTCCCTACCCTGGAGAATAATTCGGTTCCTCAGTTCCTTTGAGAAAGGTAGT
4	ON 30	363	ACACTAACTCCATGGAAAAACAGCCAGAACCAGTATGAGTTTGATGAGCTCCAAGATTGATCGGTCGATCGATGTTTCGTGTAGTCTACACATAAAGTATCGTGAGTCAATTCAGCAATGGTGTGTTGATTAGCTTCTAAGTTAAGTTGTTTCATCAGGATAATTAAGAAGTTTAAAGAATTAAGAATGATTTAATTATTGGGGTCTTGTGATCTTGTGTTTCGGTTCATAGTAGTTGTCATCATCATCATCGTCTGAAAAGCTAAGGTATGAGAACATGTATGTTTTGTTTGTATTTCGTTTCATGAATTTAATAATATGTATATTTGTAATAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAGT
5	ON 29	416	ACAAGTCCCCACCACCTCCTCCACCAGTCCACAAGTCTCCACCACCGCCAACCGAAAAGCCTTATAAATACAAGTCTCCTCCACCTCCTACACCAGTCTACAAAGTCTCCGCCGCCACCAGTTTACAAATCCCCACCGCTCCCATTTACGTCTATTCATCTCCCCCTCCTCCTCACCCTACTAGATAGTAGCTTTGATAGCATGCTTTTCAGGAGGCAGCGGAGAACAGTATCCATATCCATGCAGTTGAAGTGTGTCCTTGAAGAGCTCTACAGAGTGAAAGAGAGAGCGGGTTCGCGTTTTGGTCTTATCTTATTATAAATTACGTGTTAGAAAGAAATAAAAATAAATTATAAATAATGGATATGTAGAAAAGACAGAAAACACGCTTATCATTTTTTCATGGATTTCATAGTTTTG
6	ON 13	555	ACATGGGCACCTGAGAATGCTGCAACTGGAAGAGTGACAACAAAAATCGATGTTTATGCATTTGGAGTGGTTTTGATGGAGATTATCACTGGTGGGAAAGCATTAGATGATACTATGCCAGATGATAGGGCTCATTGTTGGTGACATGGTTCGGTTCGGGTTTTAATCAATAAAGAAAAACATTCTCAAGGCCATTGATGAAACCCTAGACCCCGATGAGGAGACAATGGAGAGTATCTACAGGGTGGCAGAGCTTGCAGGACACTGCACTGCTCGCAAACCACACCAAAGACCAGATATGGGCGATGCAGTCAATGTCCTTGGGTCCCTTGTAGGGCAGTGGAAACCTACCAGCCATGAAGATGATGAAAGCTGGGGCACTGACCTCCCCATGAGTCTCCACGAGCACTAACCTCTAAACCTTCAGGATTCATTAATAATGGATGATATTTCCATAAATTGAAATGATGTCTTAGATACGCAAGCAATGATAAATTGGGATGATAAATTATGTCATTGAATAGAAAATAATTTGCAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAGT

7	ON 12	587	<p>ACTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTCTTTTTTTAATCAAATATCATTCATCAACCTTATTTGCGAGCAGAGTTTTACAGACACGATTAAAAAGGCTGAACTTGCA  GCAAGCTAGTCTTTAAATCCACAATTTGAGATCCGCAAAATGGAAATCCTGACATTCATGAGCAAGGAAATTTATCTTGATTGTCATTAAACCAATTGACAGAAT  ATGAGAGCTAAAGAAGAGAAGTCCAGGAGATATCTCCATGAAAAAAGCCATCAAACGACCTAGTGGTGCCTTGTCTCAAAAAGACCATCTGGACCCCATGGG  AACTCCTTGTTCGGAATGTGCAAAATATGGGTACGGTGGAGGCTCTTCATGGTGGGGATGACCCTTTGAGAGGTTGTAAATAGCAAGCACAGTGCATGTAGCGA  TGCTAAATATGTTATCTTCTCCCCTTCGCAGTCTCATAGGCATCGTCTGTGATGACCAGAAGAAGCGAATCCCCGCTTGAGAGGAGCAGCGGATGTTCTAGA  ACCTCCGCGAAGAGCCGTTCTAAGGACACCAGATCTCGCCATCGCCATCGCCATTTTTTTCTGTTTTTCCCATGT</p>
8	ON 28	660	<p>ACATGGGGAAACAAAATTTATACACAATGGAGAGGTTTAGCTTGTGTGTGATTTTTTACACTCTGTGTTCTGGTGGCAAGTGCTTATGCCCAAAGTGCTTCCAA  TGTGAGAGCTACATAACCATTTGTACAACCTGCACAAAATAACTATGACTTGATGGCTGTGAGTGCTTTCTGCTCAACCTGGGATGCCAGCAAACCTTTGGAA  TGGCGCAAAAAGTACGGTTGGACCCTTCTGTGGACCGGCTGGACCTACCGGCCAGGCTGCGTGTGGGAAGTGTTTAAGGGTGACAAACACTGGGACAGGAA  CACAGGCAACAGTGAGAATTTATGATCAATGCAGCAATGGAGGGTTAGATTTGGACGAAGGCGTATTTACGCAACTCGACACCAATGGTGCAGGAAAAGCTCA  AGGCCACCTTATTTGTAAGTATGATTTTTGTGGATTGTGGCGATTAAATTAAGCACTTTCTCTGCTTCCATGTCTAAGTTAATTTATATGCATTAGACTCATAA  ATAAACTTCTGAATAAGTAAATTTATAAGTGCTTATCAGCACCACTCTTTGTAAGCTCATTTTTTTGAAGAAAGGTGAGATCATTATAATTAATAAACTCCTT  CAGAATAAGCTAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAGT</p>
9	ON 33	663	<p>ACGTGAACCAGGGCTACGGGATGGAAACACCATAACCCTCACATGCACGCGCCGAGATGTTTCAAGTATGAGAATCCGCCTGCTCCGTCATGTGAATGAAAAGA  CACGACAGTTCGAGAATCAAACGGTGGATGATGTGACAACATTAAGGCTGAAAATGTATATAACGAAATGAACTGGGAGAAGAAAGTAATTAAGTAA  ATACCAAAATTTAACTAGAATTTTGGAAATTTGGGGTTTGAATGTAGTTGAGTATTATTAGACCGGTGCCGTCTGTATATGCGGTTCAAAAATGTATATGC  GGTTCAGTTGGTTGATTGGCTGTGGACGTTGATTTTTGTTTGTCTTTAATATGAAATATTAATAAATAAGCGTGGTCCGCGCCGAGGTACTTTTTTTTTTT  TTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTACAAGTCAAGATGACATTATAAGATAGAACAAGAAGTCAACTATTCAAGTATGTTATTTGGGCTTT  TATAGATGAGAGATTTGGCTCCGATCTTCTGCACTTAAAACAGAAGACAAAAAGCACAGAGAGAAGATCCAAAGTTACATCATTCCAAATTTTACCAAAGAGG  AAATATCAACTAATCTAGATTTCAAAAAAAAAAAGAAAAAAAAAAGT</p>
10	ON 8	769	<p>ACTGGGGAATATTTCTACTTCACCCAATGTTTGGTGGAGAAAAGAGAACCGAATCAGAGAACAGATTGGATGGCAAATACTTTGTTACAATACAAGACCGCAAT  TGGTATTTGGAGGGCGTATCTTCTGAGGGAGAAGATAGGGATCATCCGGCATGTAACCCATTTGGCCCTCGAGGTAAAAGCCTTGAAAGCATTAAAGTTTCCCA  AAAGTCTCGTTGTTGTGGCTGGTTGGATCTTGTTCAGACTGGCAATTGGCTTATGTTGAAGGGCTGAAGAAAGCTGGTCATGAAGTGAATCTCCTTTTTCT  GAAAGAGGCCACTATTGGGTTCTACTTCTTGC GAATAACGATCACTTTTATTGCCTTATGGAGGAGATAAAGAAGTTTGTGAATCCTAACTGTTAATACTCT  TCTTAACCTTAACTACAGGCAACCTTACATAACAGAAGTTTGACATTTCACTCGGGTTTTTTTTATCCTTTTGCAGTGACGTTGTGTAGTTATAAGATTGTGTT  GTATTATTACTTCTTACCGTGTACCATTGTGGTGGCGGTATAAGAGTCTGCATCTTTGGCGACTGGTTGTTCTTGTGTTGTGGAGAAGAGAGCTTATGGTCT  ATCATTTAGGTGGGGAAAAGGAAATCTATCCGGGAACTACCAGTTTCAAGTGGATCAGAATTTGTTAATTTGATTTGGCTGAACCACCAGGAGATACAGCTTACC  CTTTTTAACTTCCGGCCACCAATAACGGGGACAGAGAAAAGTGTGGGGT</p>



**Πίνακας 4.** «Καθαρές» αλληλουχίες που αποκτήθηκαν από την αφαιρετική cDNA βιβλιοθήκη OFF-ON.

Σημειώνεται ότι για την απόκτηση «καθαρών» αλληλουχιών έγινε χρήση του λογισμικού VecScreen (NCBI). Επίσης ο αριθμός δίπλα από τον τύπο της βιβλιοθήκης αντιστοιχεί στον αύξοντα αριθμό που χαρακτήριζε την αποικία στο πιάτο συλλογής.

A/A	Όνομα αποικίας	Μέγεθος (bp)	Αλληλουχία
1	OFF 9	92	ACTTTTTTTTTTTTTACTCTGCTAAGCAGTGGTATCAACGCAGAGTAAGCAGTGGTATCAACGCAGGGTAAGCAGTGGTATCAACACAGAGT
2	OFF 8	145	ACATGGTAAGCAGTGGTATCAACGCAGAGTAAGCAGTGGTATCAACGCAGAGTAAGCAGTGGTATCAACGCAGAGTAAGCAGTGGTATCAACGCAGAGTAAGCAGTGGTATCAACGCAGAGTAAGCAGTGGTATCAACGCAGAGT
3	OFF 36	275	ACGCAGTGTATCAACGCAGAGTAAGCAGTGGTATCAACGCAGAGTAAGCAGTGGTATCAACACAGAGTAAGCAGTGGTATCAACGCAGAGTAAGCAGTGGTATCAACGCAGAGTAAGCAGTGGTATCAACGCAGAGTAAGCAGTGGTATCAACGCAGAGTAAGCAGTGGTATCAACGCAGAGTAAGCAGTGGTATCAACGCAGAGT
4	OFF 21	278	ACATGGGAGAATGCATTGGATGGATGCCCGGGCATCGAGAAGGAAGGACGCTTTATGAGGCGAAAGGCCATGGGGAGATAACCGTCTGTGATCCATGGATCTCCGATCGGGAAACCGTATCCAAGCTCCGTGGCTAGTCTGCGCTCTTTGGACTTTTCAAACCTTAGCGAACTGAAACATCTGAGTAGCTAAAGGAAGGGAAATCAACCGAGACCCCGTTAGTAGCGGCGAGCGAGAGCGGATTGGGGGTTTGAAGAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAGT
5	OFF 13	287	ACTCAGGTGGTGGTGGGGAAGACTTGTGCACCGGGGGCGGTGGTGAAGTGTAAACCGGTGGTGGTGAATTTGTGAACTGGTGGCGGAGATTTGTAGCTGTATGGAGGAGGTGAAGATTTCTTGGGTGGTGGAGGAGAAGAGTAAACGTAGTCGGCTGAGGATTCAAAAGGTAAAGTAAGAGTGATTTGTTAAACTAAAAGAGTGGCCAAAAGGGAGGCCATTGAACTCCCCATTTTCACTACCAAATATTAATGGGTTGTTGCTTTTGTGCTTGTGCGCCCCATGT
6	OFF 32	309	ACATGGGGTGCATTGGATGGATGCCCGGGCATTTGAGAAGGAAGGACGCTTTATGAGGCGAAAGGCCATGGGGAGATAACCGTCTGTGATCCATGGATCTCCGATCGGGAAACCGTATCCAAGCTCCGTGGCTAGTCTGCGCTCTTTGGACTTTTCAAACCTTAGCGAACTGAAACATCTGAGTAGCTAAAGGAAGGGAAATCAACCGAGACCCCGTTAGTAGCGGCGAGCGAGAGCGGATTGGGGGTTTGAAGAAAAACAAAGACGCTTGTGTCAGAGCCTCACCAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAGT
7	OFF 10	353	ACGACCGGGCGTGGACGGCACTCGGTCTCCGGATTTTCAAGGGCCGCGGGGGCGCACCGGACACCACGCGACGTGCGGTGCTCTTCCGGCCGCTGGACCCCTACCTCCGGCTGAGCCGTTTCTAGGGTGGGCAGGCCGTTGAACAGAAAAGATAACTCTTCCCGAGGCCCCCGCGACGTCTCCGGACTCCCTAACGTTGCCGTCAGCCGCCACGTCCCGGTTTCAGGAATTTTAACCCGATTCCTTTTGAAGCTCGCGCACTGGGCGCTGTGCGACGGGCTTCCCCCGTCTCTTAGGATCGACTAACCATGTGCAAGTGCCGTTACATGGAACCTTCCCTCCCATGT
8	OFF 46	360	ACCCACCACCATTTGCACAGCTTCCCATTTGAGATGACCCACCTAGGTTCCGGCATTTGGTTCATAGACCTTGCGAAGAGCAGGGGCCATCTTGTGGTGGTGGAGAGTGCCAGCGACGATCATAACAATCGGACTGTGCGAGGGCTGGGCCGTGAAAATGACACCGAAACGGTCCAGATCATAACGAGCAGCTCCTGTGTGCATCATCTCCACGGCGCAGCAGGCGAGCCGAAGGTCATGGGCCAGATAGAGCCACGGCGCACATAGTTGATGACATCATCAACTTTAGAGATGACGTATTCGGCCGCTTGGATAAGGCAGGGGGCTGGACAGAGGGCAAGGGCGAGGGAGGTGAAGGACGAGAGT



9	OFF 30	403	ACATGAAGCATATGAAACTCTTTCTGATCCAGAGAAGCGAGCAGATTACGACCGCTCCTTATTCAAGCGTAGAAAACCCAGTAAGTTCTCCTTTTGAATGTCA GGAGGGGCAACTACAATGGCCACCTCGTCAAATTCAGATTTTCCAGCTATACACGGCGGTCTTGGGAAACTGATCAATGCTGGTAGGAAATAGCTGCAAAAT GGGCGGAGTTAGTTTCTTAGGATGAGAGTTTTAAAAATATATATTGTAAGCATTACCTTGTCTTGTTTATAGGGAATGCTGAATAGTGCCTGTAAATAT CTATGATTGAAATTGAAACTTAAACCAGGCGACATTTTTATAGTCTGGATTTAATGAAAATTCCAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAGT
10	OFF 35	448	ACATCACCGCCCTCACCAGCGACACCTTCCGTGCCAAAAACAGCCCGAACGTCACCGCCGGGTTAATATGACCCCCGGAGATACCGGCGGTGCAGTAAACCAG AACGAAGATCATGCCACCGAAGGCCAAGCGATACCGAGAATGCCGACGCCACCGCATGGGTGAGCATGGTCAATCTGGCTCTTATAGCCGATGACAGTCAGA ACGGTGATGTAGAGGAAGAGCAAAGTGGCGATGAACTCGGCGATTAAAGCTCTGTAGAAAAGACCACTTGGTGAGCTCGACTGAGTCGAAGAAAGGAGCTGGAG GTGGGTCTGTGTAGTCTTGGCTGAGTATGAGCCATGCTCTGAGTCTTTCGCCATGGATTAATTTTGCAGAAAACAAAATTGAAAGAGTTTCGAGAGAGAGAGAG AGTTTGGCTATGGAGAGTGCTTTGGTGTCCCCATGT
11	OFF 26	479	ACTACAAGGATCTGAACTGCATTGACAAGCAACACCACACGACAGGAACAGGATTCATCAAAATGGAAAATGCAACTGGAAAATGCTTCAGCCTAGGCCTTAA CTCTACCAATGACTGTCATGACTCATGCAAGGGGAAACCCAGCTACTAATGACTGGATTCCCTTCGGCTGATAATATGGTAACTTTTTCTTCGGACAAGCCAAAG AGGAGTGACAACGAAATGGCCAATACTGTCTTCAAATAAGAGCTAGATGTTGTTGCATGGTTCCCTTAGCTTTCTATTATGACTGTCTTGGTTCCAAGTGTGG CAAATAATTTGTAATCTGGGGATTGTATTAGTTTTCGAGTGTGTATGTGTAGTCTGCTTTTGTCAATTAGAATGATGGTTCTAGCTTCTGTGATGATTTTTATATA TATTGTTAAATAAGAATAATCAAACCTCAGTTGAGATAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAGT
12	OFF 7	522	ACTAACAAGGTTGCTTCGCCGGTGGCACGGTTCTTCGCCTTGCCAAAGATTTAGCAGAGAACAACAAGGTGCTCGTGTCTTGTGTCTGCTCAGAAATTAC TGCTGTTACTTTCCGTGGTCTTAGTGACACCCACCTTGACAGTCTTGTGGGTCAAGCCTTGTGGTGGTATGGTGCAGCTGCTGTATCGTTGGTTCTGATCCA GTTCCCGGGGTTGAGAAGCCAATGTTTGAATAGTCTCTACGGCTCAAACAATTTTGCCTGACAGTATGGGGCTATTGATGGACATCTTCGTGAAGTTGGGC TTACATTTACCTTTTGAAGATGTTCCCGGGCTTATTTCAAAGAACATTGAGAAGAGTTGGTTGAGGCATTCAAACCATTTGGGTATCTCAGATTGGAACCTC ACTTTTCTGGATTGCACACCCCTGGTGGTCCGGCAATTTTGATCAAGTTGAAATCAAATTTGGGCCTTAAGGAAGAGAAGTTAGGTGCCACAAGACATGTGCCT TCCGAGT
13	OFF 45	571	ACTTACCCAGCTGAGCAAGTGAGCTGGCATTGGCACGCACAAGCAGTGTCTCCTGAGCTGCCTTAAACATTCTCTGGCCTGCCTCCCCATGTCTTCAAGCAGGT GTTTTGGAGGGCTCTTGCATACGAGAACGACACGTGCCATGGGTTCGGAGCTTGGTTCATGGCGTTCAAGTTCAGGGTTGCCTCAACCTCAGATTGCCACCA GACAAGAACATGATGCCGGGGACAGCTGGTGGGATTCTCCTTTGAGGAGCTTGGGGTGTAGTCAGCAACCTGTTGAGGTGTGGCCCTTTCTTGCATTTCAG CACCAGGGGTGACCATGCTAGGCTTGAGGAGGATTCCCTCAAACATCATTGTTCTCAGCAAGGTAGAAGAAAACCTCTGCCCAAACCTTCTGGGCTACTTC AAAAGTCTGTCAATGCCGTGCTCACCATCAAGCAAGATTTCTGGCTCCACAATTGGGACCAATCCATTGTCTGAGAAATGGCAGCATAGCGGGCGAGACCC CAGGCTGCTTCTTCACTGCCAAAGCAGATGGGCCATTGGGGATGCTCACAACAGT

14	OFF 24	597	<p>ACAGCAAAACCCCTAAAAGAGATCCAGGCCGTTCCCGAAGATGAGGGATACCGTAAGGCCGTTGGAGAGCTTCACACAACATCGTCTCAAGGTTTGTCAAGAGGA  AGAAGACTGGGAAATGATCGAGAAAACGCCCTTGGATGTGGCCAGGTTGAGGAGCTCATCGAGGAAGCCCAGGACGAGCTAACGCTCATCTCCAAAATGATCGAG  TGGGATCCTTGGGGTGTTCCTGATGACTATGAATGTGAAGTTATTGAGAATGATGCACCGGTTCCCAAGCATGTTTCTCTGCACCGACCCGGTCTCTGCCTG  AGGAATTCTACAAGACATTGGAGGCTGTTACCAAAAAATGATGCTCCTGCCGTACCTCTGGTGAGTACAGCCTAAGGAATAATATGCTGCTGGCACTTGTCT  GGAGTAACGATTAGTTTCATGGTTGAATTTGTTTTTTCTTAAAGATTAATCTTGTACTTTGTATCCTGCCTGTTTTTGGGTTGAATATAGTTTTGATTAATGA  GACAAAAGGCTTGAACATATCCGGTTAATAATCTTGAGATGAACAGGTTTACGAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAGT</p>
15	OFF 33	666	<p>ACTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTAGTTAAAATACTCCATAAAGTTCTTGCAAGCAATTACCAGTCCCAAAAAACAGACTTACATACTCTTAATAAAAA  CATCAGGCTAATCCTATTTCCACGTGTCCACAGCCAAAAGCCATATATAAATATAATCTTACAAACACCGTTCTTGTACGACACTTACGCTGACAACATACG  CTAAATCTGTCAATAATAATATTAATAAATAACCCCTTGACCACTGTGCTTCAAGGTTTGGGGCTCGAGCCCTTAGGCCTTGACTCTATTGCCCGCTCGTGCA  CTTTCACAGAAGAATAAATAAACAACCTTAAACGAGTTCCTATATTTGCTAAAGTTACTAATAAGTTGGAGATGGAGATGATATTAGGCTTAGAGCTGGCCAAA  TGAGTGAGCAAGGTATGATAGTGTCTTACAAGGGGTGCGTTCATGTAAGTGGATGGCTCTGATTGCTCGTAATCTGACCGTTGATCTGGGAACCTATCATGC  AGATCAGGCCACCAACAACCTGCACCAATTAGGATGTTGGGGTTGGGAGATTGAGTGTTCAAAAACTGAAGCCTGAAGAACATTGGATCTTGGCTGGGTGTG  CAGCAACGGACGGCAGAGATGATCCCTATGGTGTATCCTTTGTAGGT</p>
16	OFF 29	703	<p>ACATGGAGACACTACACTCTTTTCAGAGTTATCCTCAATGGGGTTTCGTTTCAGTTCTCACACTACTTCTCTTTGCATTGGCTCTGTCAATCAGTTTCCAGCTT  TCCACATGCCATGAAGCCCTCAAGGGAAAAAGTTTCTTGTCTCCGACTGCAATGGAAACAACGATTTAACAGGCTTTAAGGTTATGGTGAAGTGTGACAAAGTGA  AAAAGGTGGCAGTGGCAACCACAGAAGTTTCGGGTTCCTTCCAGGTTGAGCTTCCATGGGACACTAAAAAGACTCCAAAACCTTTGAATTGTCTGGCGAAGCT  GCTCGGAGGCCAGTCCAGCTCTATGTTTCGAAGAAAAACATGGTTTCGAATGTTGCGAAAGGCAAAAAATGCGAAGTCATTCCGCATCTCAACTCCTTTAGCC  TTCTCCGTATCATGCCCTGCAACTTAAATGAAAGATGGTAAATGTAATGCAGCAACCAAGTTTGGTTCATCGAAGACAGTTGATTTACCTCTTCCAAGAGAGT  GGGGGCTTGGCCATCAAGCTATTATGTTCCGTTCTTCCCTATCATTGGTGTTCCTTAATTAGATGTTGCTGTTGTAGTATTTCTGAATGTTATATGCTAGC  AAGATGGAATATAATGTTTGTCTGCTATACATATATATATATATATATATGCTTTTTAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAGT</p>
17	OFF 31	704	<p>ACATGGGGACTCAAGCGCATTCGCATTCTTACTGATTTCTCTCCATTACTTCTAGTAAAGTTATCTGTTTTTTTTTATTTGTCTCATCAATCATAATGGCCAGTA  GCCTGAAGCTTGTTTGTGTCTTGGTTTTGTGCATGGTGATGACTGCACCAATGGCTCTTGCCGTCGACTGTAATCAGGTGACCAGTGAAGTGGCACCATGCTA  CGGTTACCTGATGAGTAATGGTGAGGGTCTTGCCCCGGCAGACTGTTGCAGTGGACTTCAAGCTGTAACAACCGCCGCCAGACCACAGCCGACCGCCAACAG  ATCTGCCAATGCTTTAAAAACGCCCCCAATCGGCATCCGATATCAACACTAATAACCGCAGCTCAGCTCCCTAGCAAGTGTGGCATTACTATTCTTACCAGA  TGAGCGCTTCTACTAACTGCTCCAGCATCCAGTGAAGTGCATCATCTACTGGCGATTTGCTGGTGTAGAGTAAAATATGCTAGTATGAGAAGAATAATAAATTT  TTATTACTATCCGAATATATATATATATATCTCCCTGTGTGAGATCTGTCTGATGTCGAGTTTTAGTGTGTATCTTTTTGATTTTTGTGTCGTTACGACATCTAT  TTAAATAAGTTATGTTCTGTGTTTTAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAGAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAGT</p>

18	OFF 17	857	<p>ACTTTATTTAACAAACTATTATATCAGATAAGACCTGCTACCACAAGTCAATTTTACAGAGTAGTAACATTAACAATTCC  TTCCACGCAGATTCAAAAACACAGTACGTGGTAAGCAGTGGTATCAACGCAGAGTAAGCAGTGGTATCAACGCAGAGTAAGCAGTGGTATCAACGCAGAGTAAG  CAGTGGTATCAACGCAGAGTAAGCAGTGGTATCAACGCAGAGTAAGCAGTGGTAAACAACGCAGAGTAAGCAGTGGTATCAACGCAGAGTACATGGGCACGCAA  TGTGATTTCTGCCAGTGCTCTGAATGTCAAAGTGAAGAAAATTC AACCCAGGCGCGGGTAAACGGCGGGAGTAACTATGACTCTCTTAAGGTAGCCAAATGCCT  CGTCATCTAATTAGTGACGCGCATGAATGGATTAACGAGATTCCCACTGTCCCTGTCTACTATCCAGCGAAACCACAGCCAAGGGAACGGGCTTGGCAGAATC  AGCGGGGAAAGAAGACCTGTGAGCTTGACTCTAGTCCGACTTTGTGAAATGACTTGAGAGGTGTAGTATAAGTGGGAGCCGAAAGGCGAAAGTGAATACC  ACTACTTTTAAAGTTATTTTACTTATTCGCTGAATCGGAGGCGGGGCGCTGCCCTCTTTTTGGACCCAAGGCCCGTCTCGGCGGGCCGATCCGGGCGGAAGA  CATTGTCAGGTGGGAGTTTGGCTGGGGCGGCACATCTGTTAAAAGATAACGCAGGTGTCCTAAGATGAGCTCAACGAGAACAGAAATCTCGTGTGGAACAAA  AGGGTAAAAGCTCGTTTGATTCTGATTTTCAGT</p>
19	OFF 42	1031	<p>ACTAGAGAATCATCTTGGTCAGGAGTAATAGGAGCTTCGACGTCATTAACAGGAACCTGGTTGCCATCATAATTGGTCTCATCTACATATCTAAAGACATCAT  TCAAAACAAAGTAGCCTTTGTCTTGAGGTGCCAGGAAGAACTCTGAGTAAATTTCCGCTTCACATTGTCCTTTCCAGTCAAATACCCAGTCACAAGAACAAG  AACTCCCCATTGTAAGATTCTTGTGCATCCACAGTTGTTATCTCAGCGCTGAAATCTCCATAATGGAGTGAAAGTATCTTATCATTGATAGCTTGCATAGTG  GTTGTGATACTCATGACCCCATTTCTTCAGGGCGACCAAGCTTACTAATATCCTGGTAAAACCGATGAACATGCTCGGGAGATTGGTGTAAATATAAGGTAGT  ATTGATGAACAAACGCATTTCCCACAACATCAGCGGTAGGAGCTGGAGCTGGAGCTGGCTGAACCGTAGACGCCACCACTACTCTTACCATTCTTAGTACCTG  CCCGGGCGGCCGCTCGATCGAGCGGCCGCCCGGCCGGTACTCATTCCAATTACCAGGCTCGAAGAGCCCGGTATTGTTATTTATTGTCACTACCTCCCCGTGT  CAGGATTGGGTAGTTTGC GCGCCTGCTGCCTTCCCTTGGATGTGGTAGCCGTTTCTCAGGCTCCCTCTCCGGAATCGAACCCCTAATTCTCCGTCACCCGTCACC  ACCATGGTAGGCCTCTATCCTACCATCGAAAAGTTGATAGGGCAGAAAATTTGAATGATGCGTGC GCGGCACGATGGCCGTGCGATCCGTCGAGTTATCATGAAT  CATCAGAGCAACGGGCAAAGCCCGCTCGACCTTTTATCTAATAAATGCATCCCTTCCAGAAGTCGGGGTTTGGTGCACGTATTAGCTCTAGAATTACTACGG  TTATCCGAGTAGCAAATACCATCAAACAAACTATAACTGATTTAATGAGCCATTCGCAGTTTTCACAGTCTGAATTAGTTCATACTTACACATGCATGCCCATG  T</p>
20	OFF 47	1078	<p>ACTTTAATTTAACATTTCATAATAATTTAATATTCCCCGAACCAAACGGACCCCTAAGCGATATTACACAAGGATAA  TCACCGTTAGGCGACAAC TGACGAGGAAACAAAATCATTGAAATTC AATCTAAATTTCTGTACATGGAAAACATAAACTAAACGGCAAAGATGGAATAAT  TTATACGGTTCGTTTAAATTCGCCGAATGAGGGACATAATTT CAGCACTCTGCGATGATTTCTTGTGTAAACTCTTGCGTCCATACCTGGGAGAGCCCAGCTGG  AAATGGAAGGTAGGATTTGGACCTTTGGACAGTATTGAGAAGCCATCTCGAACAGGCAACACTAAAGCAGTGTTAGGATCAGAGTTCTCCGTTGCGGTTTTTTG  TTGGTGGATTCCTAACCGGTGATAACTTGT CAGTGTACGTGTGAATGAAAAGTGGCACTTCCCTAATGT CAGATTCTTGCTTAAATGTTACTTTTTGCTGCCCT  TGGAAACTTGAGGTCTCTGGAGTCTTCATTTGATTTT CACAACATTTGTGATTGGAGCTGATAAATAACGCCGGTGATAGTTTGGCAAAGCTGGATTCCATCTT  ACTTTGTTTAGAGCAAGCTTGTGAGCGTATTGTT CGCATGAAAAGAGTCTTTGTTTAAAGGGTACTGATTTCGAAGCTCTGCCTCAGCAAAAATCATTGGTATCAG  AAATGCAGTGTTCAGGATTAGAAGAGACGCTTCC CAGATGGTCAACAACAGTAACCAGAGCCCTGCATATGTATTCTTTTGTGTTTTTCGACGGCATCTTTTGT  CTCCTTGACTTTCAAGAATGTTGTTTCGCAGTAATCAGCAGCATAATGAAGCTGAGAGCGCAAATCTCTGAGTTCCTTGAGTGAATTCTCAAAGCGAAAATCT  TCCCTCGGAGTGAGCTTCTTGATTTTGAAGGCAGATAATTC AAGGAGATGCATTTTTTTCGAAGACAAAAGATAGAAATGAAATGGAATTTAAGGATGCTACGC  CTCCCCTAATCTCTCTCTTTATATCTCTTTCAGAATCGGTCCCCATGT</p>

**Πίνακας 5.** Σύγκριση των αλληλουχιών που εκφράζονται στους οφθαλμούς των καρποφορούντων βραχιόνων (ON) με αλληλουχίες κατατεθειμένες στις διεθνείς βάσεις δεδομένων των φυτών για τα ESTs (BLAST-EST).

Όνομα αποικίας	Μήκος αλληλουχίας (bp)	Ομόλογες αλληλουχίες από τη βάση δεδομένων (NCBI)	Ποσοστό "κάλυψης" (coverage) ομόλογης αλληλουχίας (%)	E-value	Ομολογία (identity) (%)	Οργανισμός	Χαρακτηρισμός γονιδίου ή οργάνου όπου δρα η ομόλογη γενετική πληροφορία
ON 4	1412	IC0AAA45CC09RM1 CitNFL Citrus clementina cDNA 5', mRNA sequence	70	0.0	74	<i>Citrus clementina</i>	
		CL06-C4-501-018-G10-CT.F Rangpur lime root, plant with hydric stress Citrus limonia cDNA, mRNA sequence	46	1,00E-129	76	<i>Citrus limonia</i>	Ρίζα
		USDA-FP_124000-061 Immature Ovaries from field-collected Valencia Sweet Orange (Citrus sinensis (L.) Osbeck) Citrus sinensis cDNA clone MVF-69_B09 5', mRNA sequence	47	2,00E-108	73	<i>Citrus sinensis</i>	Ωοθήκες
		UK100D04.5pR Populus apical shoot cDNA library Populus tremula x Populus tremuloides cDNA clone UK100D04 5', mRNA sequence	47	3,00E-87	71	Populus sp.	Βλαστός
		DB879126 full-length enriched poplar cDNA library, mixture of leaf, bud, stem, root Populus nigra cDNA clone PnFL2-026_G22 5', mRNA sequence	38	7,00E-83	72	<i>Populus nigra</i>	Μείγμα οργάνων
		FP074369 LG0AAD Quercus robur cDNA clone LG0AAD11YE23RM1 similar to O81862_ARATH Putative chitinase . - Arabidopsis thaliana, mRNA sequence	43	1,00E-74	70	<i>Arabidopsis thaliana</i>	Χιτινάση
		LINN_XX_017_I03_LINN17.CR_I03 R. communis developing seed Ricinus communis cDNA, mRNA sequence	53	5,00E-72	68	<i>Ricinus communis</i>	Καρπός
		UK100D04 Populus apical shoot cDNA library Populus tremula x Populus tremuloides cDNA 5 prime, mRNA sequence	36	2,00E-70	72	Populus sp.	Βλαστός
		FY430917 Raphanus sativus GSK3-1 flower Raphanus sativus cDNA clone RSCF12D02, mRNA sequence	48	2,00E-65	69	<i>Raphanus sativus</i>	Άνθη
		E3270 [C4846]drt2_d10] Drought Library Eutrema salsugineum cDNA, mRNA sequence	38	4,00E-61	70	<i>Eutrema salsugineum</i>	Ξηρασία
		Mdlv2_4017m20.y1 Mdlv2 Malus x domestica cDNA clone Mdlv2_4017m20 5' similar to TR:O81862 O81862 PUTATIVE CHITINASE. ;, mRNA sequence	40	1,00E-60	69	Malus sp.	Χιτινάση
		LjNEST59h10r Lotus japonicus nodule library 5 and 7 week-old Lotus japonicus cDNA 5', mRNA sequence	30	1,00E-48	71	<i>Lotus japonicus</i>	Κόμβοι

ON 8	769	C18008C02Rv Drought2 Citrus reshni cDNA clone C18008C02, mRNA sequence	74	0.0	85	<i>Citrus reshni</i>	Ξηρασία
		KumquatLateLib_FIII-B05.b Fortunella margarita adult leaf subtraction library Citrus japonica var. margarita cDNA, mRNA sequence	74	1,00E-177	84	<i>Citrus japonica</i>	Φύλλα
		VVB154A06_409459 An expressed sequence tag database for abiotic stressed leaves of Vitis vinifera var. Chardonnay Vitis vinifera cDNA clone VVB154A06 5, mRNA sequence	77	4,00E-171	83	<i>Vitis vinifera</i>	Αβιοτικό στρες
		VV_PEB21g02.b1 Vitis vinifera cv. perlette LibB Vitis vinifera cDNA, mRNA sequence	78	1,00E-170	82	<i>Vitis vinifera</i>	
		WIN0551.C21_D14 Cab Sauv flower, leaf and root normalized (WIN05) Vitis vinifera cDNA clone WIN0551_D14 3', mRNA sequence	78	1,00E-170	82	<i>Vitis vinifera</i>	Μείγμα οργάνων
		M123C12.5pR Populus female catkins cDNA library Populus trichocarpa cDNA clone M123C12 5', mRNA sequence	59	3,00E-128	83	<i>Populus trichocarpa</i>	Ύουλος
		PP_LEa0017C08f Peach developing fruit mesocarp Prunus persica cDNA clone PP_LEa0017C08f, mRNA sequence	62	8,00E-117	80	<i>Prunus persica</i>	Καρποί
		GJCCJC2065F06.b Jatropha curcas L. developing seeds (mixed stages) Jatropha curcas cDNA clone GJCCJC2065F06 similar to ATGID1B/GID1B (GA INSENSITIVE DWARF1B); hydrolase, mRNA sequence	55	1,00E-114	82	<i>Jatropha curcas</i>	Σπόρος
		PU4_plate50_N06 PU4 Prunus persica cDNA similar to weakly similar to expressed protein (At3g63010.1) [Arabidopsis thaliana], mRNA sequence	64	4,00E-114	79	<i>Prunus persica</i>	
		MTU5CS.P6.A05 Aspen stem cDNA Library Populus tremuloides cDNA, mRNA sequence	60	6,00E-112	79	<i>Populus tremuloides</i>	Βλαστός
		CGF2003233_C12 WRO-02: Walnut root Juglans hindsii x Juglans regia cDNA clone WRO-02-1_IV_C12 5', mRNA sequence	61	9,00E-110	79	Juglans sp.	Ρίζα
		GJCCJC2046F05.b1 Jatropha curcas L. developing seeds (mixed stages) Jatropha curcas cDNA clone GJCCJC2046F05 similar to ATGID1C/GID1C (GA INSENSITIVE DWARF1C); hydrolase, mRNA sequence	59	4,00E-101	78	<i>Jatropha curcas</i>	Αναπτυσσόμενοι σπόροι
		UFL_039_07 Cotton fiber 0-10 day post anthesis Gossypium hirsutum cDNA, mRNA sequence	51	9,00E-97	80	<i>Gossypium hirsutum</i>	
		TT-33_E08 K326 late senescent leaf library Nicotiana tabacum cDNA, mRNA sequence	60	1,00E-95	77	<i>Nicotiana tabacum</i>	Φύλλα
021010KALA011797HT (KALA) Dormant kiwifruit buds three days after hydrogen cyanamide treatment Actinidia deliciosa cDNA clone KALAA01179, mRNA sequence	55	2,00E-93	79	<i>Actinidia deliciosa</i>	Οφθαλμοί		

		G10_P11_082 Cotton ovule and fiber 3-5 days post anthesis <i>Gossypium hirsutum</i> cDNA, mRNA sequence	53	2,00E-92	79	<i>Gossypium hirsutum</i>	Ωοθήκες
		G10_P11_082 Cotton 1-14 day post anthesis Lambda Zap Express Library <i>Gossypium hirsutum</i> cDNA, mRNA sequence	53	2,00E-92	79	<i>Gossypium hirsutum</i>	
		GH_TMIRS_095_E01_F Cotton Normalized Library dT primed <i>Gossypium hirsutum</i> cDNA, mRNA sequence	49	7,00E-92	80	<i>Gossypium hirsutum</i>	
ON 12	587	1051 'Cara cara' navel orange fruit cDNA library <i>Citrus sinensis</i> cDNA clone 1213 5', mRNA sequence	98	8,00E-103	75	<i>Citrus sinensis</i>	Καρποί
		PT11-C2-301-011-F09-CT.F <i>Poncirus trifoliata</i> bark, infected with <i>Phytophthora parasitica</i> <i>Citrus trifoliata</i> cDNA, mRNA sequence	98	1,00E-93	73	<i>Poncirus trifoliata</i>	Φλοιός
		ESTs_277 Citrus Floral Organs and Fruitlets cDNA Library <i>Citrus reticulata</i> cDNA 5', mRNA sequence	71	7,00E-91	81	<i>Citrus reticulata</i>	Άνθη και καρπίδια
		UCRCS04_0005P16_r Ruby Orange Developing Flower cDNA Library <i>Citrus sinensis</i> cDNA clone CS_REb0005P16, mRNA sequence	59	3,00E-89	81	<i>Citrus sinensis</i>	Άνθη
		USDA-FP_5111 Ridge pineapple sweet orange entire seedling <i>Citrus sinensis</i> cDNA clone RSE41D07 5', mRNA sequence	92	3,00E-89	74	<i>Citrus sinensis</i>	Σπορόφυτα
		USDA-FP/ARO_16116 Star Ruby grapefruit hot water-treated flavedo <i>Citrus x paradisi</i> cDNA clone Hw-37_G10 5', mRNA sequence	90	1,00E-86	74	<i>Citrus</i> sp.	
		UCRCS07_11D02_b Parent Washington Navel Orange Thrip-Challenged Flavedo cDNA Library UCRCS07 <i>Citrus sinensis</i> cDNA clone UCRCS07-11D02-G3-1-6.b, mRNA sequence	71	9,00E-83	80	<i>Citrus sinensis</i>	
		TSH_EST00361 <i>Theobroma cacao</i> - <i>Moniliophthora perniciosa</i> incompatible interaction library <i>Theobroma cacao</i> cDNA clone RT-004D02 5' similar to cytochrome c oxidase-related [Arabidopsis thaliana] pir T06030 hypothetical protein T28I19.110 - Arabidopsis thaliana emb CAB38931.1  putative protein [Arabidopsis thaliana] emb CAB80448.1  putative protein [Arabidopsis thaliana] gb., mRNA sequence	52	3,00E-82	83	<i>Theobroma cacao</i>	Cytochrome c oxidase-related
		CU629830 COTYLEI_KZ0ABB <i>Theobroma cacao</i> cDNA clone KZ0ABB2YC01FM1, mRNA sequence	55	3,00E-82	81	<i>Theobroma cacao</i>	
		GA_Eb0016B17f <i>Gossypium arboreum</i> 7-10 dpa fiber library <i>Gossypium arboreum</i> cDNA clone GA_Eb0016B17f, mRNA sequence	52	3,00E-82	83	<i>Gossypium arboreum</i>	
C02_P9_006 Cotton 1-14 day post anthesis Lambda Zap Express Library <i>Gossypium hirsutum</i> cDNA, mRNA sequence	52	1,00E-80	82	<i>Gossypium hirsutum</i>			

		rayctn0_0065_H02.ab1 cotton shoot apical meristems, buds and flowers Gossypium hirsutum cDNA 3', mRNA sequence	52	2,00E-79	82	<i>Gossypium hirsutum</i>	Μείγμα οργάνων
		GH_TMIRS_214_G12_F Cotton Normalized Library dT primed Gossypium hirsutum cDNA, mRNA sequence	52	2,00E-79	82	<i>Gossypium hirsutum</i>	
		CM090G08 Cotton Lambda Zap Express Library Gossypium hirsutum cDNA, mRNA sequence	52	2,00E-79	82	<i>Gossypium hirsutum</i>	
		G.hir-15-20 DAA bolls drought stressed 423 15-20 DAA bolls from drought stressed plants Gossypium hirsutum cDNA, mRNA sequence	52	2,00E-79	82	<i>Gossypium hirsutum</i>	Κάψα
		CP-36_E07_052.f1 Citrus paradisi young grapefruit leaf cDNA library Citrus x paradisi cDNA clone CP-36_E07_052 3', mRNA sequence	62	2,00E-77	82	Citrus sp.	Φύλλα
ON 13	555	CGF1004348_C04 Developing fruit juice sac at 38 DAFB Citrus sinensis cDNA clone JSJune0004_IIF_C04 5', mRNA sequence	62	3,00E-108	85	<i>Citrus sinensis</i>	Καρποί
		VVI021B03_586194 CabSau Flower Stage 12 (FLOu0012) Vitis vinifera cDNA clone VVI021B03 5, mRNA sequence	71	1,00E-94	80	<i>Vitis vinifera</i>	Άνθη
		GLL051_B03_015 Cyamopsis tetragonoloba (L.) Taub seeds at late developmental stage Cyamopsis tetragonoloba cDNA, mRNA sequence	72	1,00E-93	79	<i>Cyamopsis tetragonoloba</i>	Σπόροι
		UFL_270_83 Cotton fiber 0-10 day post anthesis Gossypium hirsutum cDNA, mRNA sequence	70	2,00E-85	78	<i>Gossypium hirsutum</i>	Ίνα
		sak34a09.y1 Gm-c1075 Glycine max cDNA clone SOYBEAN CLONE ID: Gm-c1075-4650 5' similar to SW:TMK1_ARATH P43298 PUTATIVE RECEPTOR PROTEIN KINASE TMK1 PRECURSOR ;, mRNA sequence	66	2,00E-85	79	<i>Glycine max</i>	Υποδοχέας Κινάσης
		S2B21839 Buds (VvS2) Vitis vinifera cDNA clone S2B21839, mRNA sequence	66	7,00E-84	79	<i>Vitis vinifera</i>	
		CBTI3173.b1_J01.ab1:P Triphysaria pusilla root tip normalized cDNA library Triphysaria pusilla cDNA, mRNA sequence	64	9,00E-70	77	<i>Triphysaria pusilla</i>	Ρίζα
		69898.1 Mixed Floral Solanum tuberosum cDNA clone 69898 5', mRNA sequence	71	1,00E-68	75	<i>Solanum tuberosum</i>	Άνθη
		UA33CPD12.3pR Populus dormant cambium cDNA library Populus tremula cDNA clone UA33CPD12 3', mRNA sequence	60	1,00E-68	78	<i>Populus tremula</i>	Κάμβιο
		OEAA-070810_Plate6k12.b1 cDNA library from Olive leaves and fruits Olea europaea cDNA, mRNA sequence	62	4,00E-68	77	<i>Olea europaea</i>	Φύλλα και καρποί
		DK541350 full-length kale cDNA library (flowers) Brassica oleracea var. acephala cDNA clone KALE-068I20 3', mRNA sequence	64	9,00E-64	75	<i>Brassica oleracea</i>	Άνθη

		charng00061 Tomato root subtractive cDNA library for heat-shock down-regulated genes Solanum lycopersicum cDNA clone LEHRD01F05, mRNA sequence	70	9,00E-64	74	<i>Solanum lycopersicum</i>	Ρίζα
		PE-XY-003_CN-007_F10 Xylem vascular tissue, differentiating (EUPE-XY) Eucalyptus pellita cDNA clone PE-XY-003_CN-007_F10 5', mRNA sequence	64	2,00E-60	75	<i>Eucalyptus pellita</i>	Ξύλο
		NLL_007812 Normal leaf cDNA library of peanut (Arachis hypogaea) Arachis hypogaea cDNA clone ocpnla0_0092_p1051286_q1_G10.ab1, mRNA sequence	53	1,00E-56	77	<i>Arachis hypogaea</i>	Φύλλα
		N060A04.3pR Populus bark cDNA library Populus tremula x Populus tremuloides cDNA clone N060A04 3', mRNA sequence	63	3,00E-56	74	Populus sp.	Φλοιός
		FQ341873 Alnus glutinosa nodule 3 weeks after inoculation with Frankia alni Alnus glutinosa cDNA, mRNA sequence	51	1,00E-55	77	<i>Alnus glutinosa</i>	Κόμβοι
		gmrtDrNS01_07-D_M13R_A02_016.s3 Water stressed 48h segment 1 gmrtDrNS01 Glycine max cDNA 3', mRNA sequence	52	9,00E-51	76	<i>Glycine max</i>	Υδατικό στρες
		454GmaGlobSeed497758 Soybean Seeds Containing Globular-Stage Embryos Glycine max cDNA, mRNA sequence	43	3,00E-45	78	<i>Glycine max</i>	Έμβρυα
ON 16	245	CAYY33051.fwd CAYY Physcomitrella patens subsp. patens Villersexel - regular (H) Physcomitrella patens subsp. patens cDNA clone CAYY33051 5', mRNA sequence	16	0.096	85	<i>Physcomitrella patens</i>	
		CCFT2052.g1_H09.ab1 CCF(STU) sunflower Helianthus annuus cDNA clone CCFT2052, mRNA sequence	16	0.33	86	<i>Helianthus annuus</i>	
		PPN029C09-T7 PPN Prunus persica cDNA clone PPN029C09, mRNA sequence	15	0.33	86	<i>Prunus persica</i>	
		PU2_plate35_P22 PU2 Prunus persica cDNA similar to hypothetical domain/motif containing InterProScan IPR005829: Sugar transporter superfamily, IPR007114: Major facilitator superfamily, mRNA sequence	15	0.33	86	<i>Prunus persica</i>	Μεταφορείς σακχάρων
ON 20	114	PvM04_F02 Pistacia male and female panicles Pistacia vera cDNA, mRNA sequence	92	1,00E-19	86	<i>Pistacia vera</i>	Male and female panicles
		15-2 Stevia field grown leaf cDNA Stevia rebaudiana cDNA 5', mRNA sequence	85	5,00E-18	83	<i>Stevia rebaudiana</i>	Φύλλα
		PAB908b02_00643 Parthenium argentatum cold acclimated bark cDNA library (PAB) Parthenium argentatum cDNA clone PAB908b02, mRNA sequence	85	2,00E-17	84	<i>Parthenium argentatum</i>	Φλοιός
		QHC4h10.yg.ab1 QH_ABCDI sunflower RHA801 Helianthus annuus cDNA clone QHC4h10, mRNA sequence	80	2,00E-17	86	<i>Helianthus annuus</i>	
		CLLY2968.b1_O22.ab1 CLL(XYZ) lettuce saligna Lactuca saligna cDNA clone CLLY2968, mRNA sequence	80	7,00E-16	82	<i>Lactuca saligna</i>	



		QGI17M09.yg.ab1 QG_ABCDI lettuce salinas Lactuca sativa cDNA clone QGI17M09, mRNA sequence	85	7,00E-16	83	<i>Lactuca saligna</i>	
		59-46 Stevia field grown leaf cDNA Stevia rebaudiana cDNA 5', mRNA sequence	95	7,00E-16	86	<i>Stevia rebaudiana</i>	Φύλλα
		030604KAZB005084HT (KAZB) Actinidia chinensis young fruit library Actinidia chinensis cDNA clone KAZBB00508, mRNA sequence	80	3,00E-15	84	<i>Actinidia chinensis</i>	Νεαροί καρποί
		BB932758 Trifolium pratense three week-old plant SSR-enriched library Trifolium pratense cDNA clone RCC04765, mRNA sequence	100	3,00E-14	76	<i>Trifolium pratense</i>	
		AJ789994 Antirrhinum majus whole plant Antirrhinum majus cDNA clone 018_2_04_g09, mRNA sequence	80	3,00E-14	81	<i>Antirrhinum majus</i>	Φυτό
		7H9 Flower Buds of Tree Peony Paeonia suffruticosa cDNA, mRNA sequence	100	4,00E-13	82	<i>Paeonia suffruticosa</i>	Ανθοφόροι οφθαλμοί
		F05_69-82_11.ab1 leaf inoculated with Marssonina pathogen of Populus deltoides Populus deltoides cDNA, mRNA sequence	92	4,00E-13	87	<i>Populus deltoides</i>	Φύλλα
		BR010139 callus cDNA library KBCG Brassica rapa subsp. pekinensis cDNA clone KBCG-021F06 5', mRNA sequence	79	1,00E-12	85	<i>Brassica rapa</i>	Κάλλος
		FQ347985 Non inoculated root of Alnus glutinosa Alnus glutinosa cDNA, mRNA sequence	91	2,00E-11	84	<i>Alnus glutinosa</i>	Ρίζα
		EST009 colored Yunnan red pear pericarp suppression subtractive hybridization cDNA library Pyrus pyrifolia cDNA clone A9, mRNA sequence	99	2,00E-11	80	<i>Pyrus pyrifolia</i>	Περικάρπιο
ON 25	814	0197276 Brassica napus Stem library Brassica napus cDNA, mRNA sequence	14	1,00E-38	92	<i>Brassica napus</i>	Βλαστοί
		0164006 Brassica napus Late bud Brassica napus cDNA, mRNA sequence	14	4,00E-38	93	<i>Brassica napus</i>	Οφθαλμοί
		EST00001 cDNA library of red fruit Panax ginseng leaves at fruit ripening stage Panax ginseng cDNA clone WSW_01_01, mRNA sequence	14	4,00E-38	91	<i>Panax ginseng</i>	Καρποί
		EoEST0708 Oil palm mesocarp-tissue cDNA Entry Library Elaeis oleifera cDNA clone Mo17-676 5' similar to Unknown protein, mRNA sequence	14	6,00E-36	90	<i>Elaeis oleifera</i>	
		E04912706B05.g Endosperm_1 Zea mays cDNA, mRNA sequence	15	1,00E-31	85	<i>Zea mays</i>	Ενδοσπέρμιο
		39350.1 Cold Sweetening B Solanum tuberosum cDNA clone 39350 5', mRNA sequence	14	2,00E-30	87	<i>Solanum tuberosum</i>	
		sau63b06.y1 Gm-c1071 Glycine max cDNA clone SOYBEAN CLONE ID: Gm-c1071-5459 5' similar to TR:O24316 O24316 ACETYL-COA CARBOXYLASE :, mRNA sequence	13	3,00E-28	88	<i>Glycine max</i>	Acetyl-CoA Carboxylase

		ctsb4a15 Tomato Seed Library [B] Solanum lycopersicum cDNA clone cTSB-4-A15 5', mRNA sequence	15	3,00E-27	81	<i>Solanum lycopersicum</i>	
		ip75d02.g1 Ginkgo megasporophyll (NYBG) Ginkgo biloba cDNA 3', mRNA sequence	13	3,00E-27	84	<i>Ginkgo megasporophyll</i>	Μεγασπορόφυλλο
		CSAG-PNP1245J23 Developing fruit juice sac at 38 DAFB Citrus sinensis cDNA clone CSAG-PNP1245J23 5', mRNA sequence	12	1,00E-26	88	<i>Citrus sinensis</i>	Καρποί
		AS2-1_P10_H06 Chickpea drought stressed cDNA SSH library AS2 Cicer arietinum cDNA, mRNA sequence	12	4,00E-26	87	<i>Cicer arietinum</i>	Υδατικό στρες
		DC883203 Cryptomeria japonica xylem (sapwood-heartwood transition zone) Cryptomeria japonica cDNA clone CjTZ10A07, mRNA sequence	10	4,00E-26	94	<i>Cryptomeria japonica</i>	Ξύλο
		Gm_ck14509 Soybean induced by Salicylic Acid Glycine max cDNA 3', mRNA sequence	12	1,00E-25	87	<i>Glycine max</i>	
		UCRCS07_19C05_b Parent Washington Navel Orange Thrip-Challenged Flavedo cDNA Library UCRCS07 Citrus sinensis cDNA clone UCRCS07-19C05-E9-1-5.b, mRNA sequence	30	6,00E-24	71	<i>Citrus sinensis</i>	Καρποί
		UCRCS03_05E08_r Washington Navel Orange Shoot Meristem cDNA Library Citrus sinensis cDNA clone CS_Pe05E08, mRNA sequence	30	6,00E-24	71	<i>Citrus sinensis</i>	Μερίστωμα
		CGN-62798 Cherry of Early Development Stage Coffea canephora cDNA clone cccwc22w14j21 5', mRNA sequence	25	2,00E-22	72	<i>Coffea canephora</i>	Κάρποι
		UM74TC05.5pR Populus female catkins cDNA library Populus trichocarpa cDNA clone UM74TC05 5', mRNA sequence	29	2,00E-22	70	<i>Populus trichocarpa</i>	Ύουλος
		pni50 Poplar limiting vs. luxuriant nitrogen Populus trichocarpa x Populus deltoides cDNA 3' similar to blue copper-binding proteins, mRNA sequence	29	2,00E-22	70	Populus sp.	Πρωτεΐνες δέσμευσης χαλκού
		AU058191 Oryza sativa Nipponbare immature leaf including apical meristem (under long day condition) Oryza sativa Japonica Group cDNA clone E50110_1A, mRNA sequence	13	8,00E-22	82	<i>Oryza sativa</i>	Μερίστωμα
ON 26	219	EST 1330 Guarana fruits cDNA library Paullinia cupana var. sorbilis cDNA, mRNA sequence	98	3,00E-52	81	<i>Paullinia cupana</i>	Καρποί
		DB908090 full-length enriched poplar cDNA library, mixture of leaf, bud, stem, root Populus nigra cDNA clone PnFL2-088_D21 3', mRNA sequence	95	8,00E-34	76	<i>Populus nigra</i>	Μείγμα οργάνων
		UM54TE09 Populus flower cDNA library Populus trichocarpa cDNA 5 prime, mRNA sequence	95	8,00E-34	76	<i>Populus trichocarpa</i>	Άνθη

		PE-XY-001_MG-052_F06 Xylem vascular tissue, differentiating (EUPE-XY) Eucalyptus pellita cDNA clone PE-XY-001_MG-052_F06 5', mRNA sequence	85	3,00E-33	79	<i>Eucalyptus pellita</i>	Εύλο
		HYS12309 Hybrid poplar cambium cDNA library during tension wood formation Populus simonii x Populus nigra cDNA clone dlca0_0011_A06.ab1, mRNA sequence	95	1,00E-32	77	<i>Populus simonii</i>	Κάμβιο
		s13dNF81A09VI067_450338 Virus-Infected Leaves Medicago truncatula cDNA, mRNA sequence	100	3,00E-32	75	<i>Medicago truncatula</i>	Φύλλα
		E11_R-22_086 Cotton 1-14 day post anthesis Lambda Zap Express Library Gossypium hirsutum cDNA, mRNA sequence	100	7,00E-28	74	<i>Gossypium hirsutum</i>	Άνθη
		2P17-B4-T3 Subtracted cDNA library from Gossypium hirsutum L. variety Bikaneri Narma Gossypium hirsutum cDNA, mRNA sequence	100	3,00E-26	74	<i>Gossypium hirsutum</i>	
		sg040G04 Cotton Lambda Zap Express Library Gossypium hirsutum cDNA, mRNA sequence	100	3,00E-26	74	<i>Gossypium hirsutum</i>	
		GH_RTMF_20R_A12_InvR_02Aug04_096_R Root (free) - 3 weeks after planting Gossypium hirsutum cDNA, mRNA sequence	100	3,00E-26	74	<i>Gossypium hirsutum</i>	Ρίζα
		UFL_644_10 Cotton fiber 0-10 day post anthesis Gossypium hirsutum cDNA, mRNA sequence	100	1,00E-25	73	<i>Gossypium hirsutum</i>	Ίνα
		GH_OVFIB_01-01-04R_A08_InvR_22Jan04_064_F Ovules - day of anthesis Gossypium hirsutum cDNA, mRNA sequence	100	1,00E-25	73	<i>Gossypium hirsutum</i>	Ωάρια
		CCPO3452.g1 CCPO Wrightia tinctoria developing embryos (H) Wrightia tinctoria cDNA clone CCPO3452 3', mRNA sequence	92	2,00E-23	73	<i>Wrightia tinctoria</i>	Έμβρυα
		BJ576738 Ipomoea nil mixture of flower and flower bud Ipomoea nil cDNA clone jm40p07 3', mRNA sequence	88	3,00E-20	73	<i>Ipomoea nil</i>	Άνθη, ανθοφόροι οφθαλμοί
		rayctn0_0072_H09.ab1 cotton shoot apical meristems, buds and flowers Gossypium hirsutum cDNA 3', mRNA sequence	78	2,00E-17	73	<i>Gossypium hirsutum</i>	Μεριστώματα, άνθη, οφθαλμοί
ON 28	660	EST00504 Theobroma cacao-Moniliophthora perniciosa pods incompatible interaction library Theobroma cacao cDNA clone RTF36B01 5', mRNA sequence	59	8,00E-91	79	<i>Moniliophthora perniciosa</i>	Λοβοί
		EST00721 Theobroma cacao-Moniliophthora perniciosa compatible interaction library Theobroma cacao cDNA clone SP-021F06 5' similar to Pathogenesis-related protein PR-4B precursor emb CAA42821.1  PR-4b protein [Nicotiana tabacum] Length = 147, mRNA sequence	57	2,00E-86	79	<i>Moniliophthora perniciosa</i>	

		UCRCS03_03F17_f Washington Navel Orange Shoot Meristem cDNA Library Citrus sinensis cDNA clone CS_Pe03F17, mRNA sequence	69	1,00E-82	75	<i>Citrus sinensis</i>	Μερίστωμα
		USDA-FP_115000-690 Citrus sinensis: Insect-damaged immature leaves/stems from field collected Valencia orange Citrus sinensis cDNA clone IDFL-008_H04 5', mRNA sequence	69	4,00E-81	75	<i>Citrus sinensis</i>	Φύλλα, βλαστοί
		UCRCS03_06D20_r Washington Navel Orange Shoot Meristem cDNA Library Citrus sinensis cDNA clone CS_Pe06D20, mRNA sequence	69	5,00E-80	75	<i>Citrus sinensis</i>	Μερίστωμα
		FQ436156 Vitis vinifera cv. Pinot Noir PN162 leaves cDNA library Vitis vinifera cDNA, mRNA sequence	59	7,00E-79	77	<i>Vitis vinifera</i>	Φύλλα
		9O_F06_012 ovule cDNA library of a seedless grape ( <i>Vitis vinifera</i> var. Thomson seedless) Vitis vinifera cDNA, mRNA sequence	59	7,00E-79	77	<i>Vitis vinifera</i>	Ωοθήκες
		S9B08376 Ripening Berries (VvS9) Vitis vinifera cDNA clone S9B08376, mRNA sequence	59	7,00E-79	77	<i>Vitis vinifera</i>	Καρποί
		S7B06268 Berries 14mm with GA3 (VvS7) Vitis vinifera cDNA clone S7B06268, mRNA sequence	59	7,00E-79	77	<i>Vitis vinifera</i>	Καρποί
		WIN091.C21_D12 Cab Sauv pericarp normalized (WIN09) Vitis vinifera cDNA clone WIN091_D12 3', mRNA sequence	59	7,00E-79	77	<i>Vitis vinifera</i>	Καρποί
		WIN0524.C21_I22 Cab Sauv flower, leaf and root normalized (WIN05) Vitis vinifera cDNA clone WIN0524_I22 3', mRNA sequence	59	7,00E-79	77	<i>Vitis vinifera</i>	Μείγμα οργάνων
		VVC007C01_394213 An expressed sequence tag database for abiotic stressed berries of Vitis vinifera var. Chardonnay Vitis vinifera cDNA clone VVC007C01 3, mRNA sequence	59	7,00E-79	77	<i>Vitis vinifera</i>	Αβωτική καταπόνηση
		91N_C08_006 ovule cDNA library of a seedless grape ( <i>Vitis vinifera</i> var. Thomson seedless) Vitis vinifera cDNA, mRNA sequence	58	3,00E-77	77	<i>Vitis vinifera</i>	Ωοθήκες
		S7B07360 Berries 14mm with GA3 (VvS7) Vitis vinifera cDNA clone S7B07360, mRNA sequence	59	3,00E-77	77	<i>Vitis vinifera</i>	Καρποί
		WIN1030.C21_N07 Muscat Hamburg post-veraison pericarp normalized (WIN10) Vitis vinifera cDNA clone WIN1030_N07 3', mRNA sequence	59	3,00E-77	77	<i>Vitis vinifera</i>	Καρποι
ON 29	416	PT11-C2-300-081-F04-CT.F Poncirus trifoliata bark, greenhouse plant Citrus trifoliata cDNA, mRNA sequence	50	2,00E-33	78	<i>Citrus trifolia</i>	Φλοιός
		H07_45-124_15.ab1 leaf inoculated with Marssonina pathogen of Populus euramericana Populus x canadensis cDNA, mRNA sequence	44	2,00E-33	78	Populus sp.	Φύλλα

		PvM04_F02 Pistacia male and female panicles Pistacia vera cDNA, mRNA sequence	84	8,00E-31	81	<i>Pistacia vera</i>	male and female panicles
		AM232119 Coffea arabica embryonic root Coffea arabica cDNA clone Ca_EmR01_00H09, mRNA sequence	44	3,00E-30	82	<i>Coffea arabica</i>	εμβρυακή ρίζα
		USDA-FP/ARO_12980 Star Ruby grapefruit temperature-conditioned flavedo cDNA Citrus x paradisi cDNA clone Cond-29_C09 5', mRNA sequence	43	1,00E-29	78	Citrus sp.	
		GR-TS-001-AF-024-F05.R Treated seedlings (EUGR-TS) Eucalyptus grandis cDNA clone GR-TS-001-AF-024-F05.R 5', mRNA sequence	44	4,00E-28	89	<i>Eucalyptus grandis</i>	Σπορόφυτα
		RCTAZ61TP Castor bean cDNA library from seeds (40-61 days after pollination), 1.6 kb Ricinus communis cDNA clone RCTAZ61, mRNA sequence	44	4,00E-28	86	<i>Ricinus communis</i>	Σπόροι
		RCRBQ22TO Castor bean cDNA library from roots, 1.8 kb Ricinus communis cDNA clone RCRBQ22, mRNA sequence	44	4,00E-28	80	<i>Ricinus communis</i>	Ρίζα
		R47D01 two-month-old roots from clone 'Beaupre' Populus trichocarpa x Populus deltoides cDNA 5', mRNA sequence	44	6,00E-26	88	Populus sp.	Ρίζα
		F042P32.3pR Populus flower cDNA library Populus trichocarpa cDNA clone F042P32 3', mRNA sequence	44	3,00E-24	85	<i>Populus trichocarpa</i>	Άνθη
		A10_69-111_02.ab1 leaf inoculated with Marssonina pathogen of Populus deltoides Populus deltoides cDNA, mRNA sequence	44	1,00E-23	90	<i>Populus deltoides</i>	Φύλλα
		USDA-FP_18439 Citrus sinensis phloem Citrus sinensis cDNA clone VPE-41_C11 5', mRNA sequence	26	1,00E-22	83	<i>Citrus sinensis</i>	Ηθμός
		C04007C04SK FlavFr1 Citrus clementina cDNA clone C04007C04, mRNA sequence	50	1,00E-22	83	<i>Citrus clementina</i>	
		PO01017F10 Poplar SC cDNA library Populus alba x Populus tremula var. glandulosa cDNA clone PO01017F10 5', mRNA sequence	44	1,00E-22	83	Populus sp.	
		USDA-FP_120000-768 Immature Ovaries from field-collected Valencia Sweet Orange (Citrus sinensis (L.) Osbeck) Citrus sinensis cDNA clone MVF-2_F11 5', mRNA sequence	50	1,00E-22	83	<i>Citrus sinensis</i>	Ωοθήκες
ON 30	363	MTYD338TF JCVI-MT1 Medicago truncatula cDNA 5', mRNA sequence	14	2,00E-13	96	<i>Medicago truncatula</i>	
		BJ937643 Cryptomeria japonica pollen Cryptomeria japonica cDNA clone CP10676 3', mRNA sequence	14	7,00E-12	93	<i>Cryptomeria japonica</i>	
		Ltu01b_50_C11_C012.b2 Liriodendron Flower Bud Library Liriodendron tulipifera cDNA clone 122MAa_E22 3', mRNA sequence	20	3,00E-11	84	<i>Liriodendron tulipifera</i>	Ανθοφόροι οφθαλμοί

EST 15685 Green Grape (harvested at 5 p.m.) Pedicles Lambda Triplex2 Library Vitis vinifera cDNA clone P3CH05GP013F09 3', mRNA sequence	21	3,00E-11	83	<i>Vitis vinifera</i>	
CGF1000814_G04 Vitis vinifera cv. cabernet sauvignon Stem - CAST Vitis vinifera cDNA clone CAST0007_IVR_G04 3', mRNA sequence	14	3,00E-11	92	<i>Vitis vinifera</i>	Βλαστός
37D6 Flower Buds of Tree Peony Paeonia suffruticosa cDNA, mRNA sequence	13	9,00E-11	94	<i>Paeonia suffruticosa</i>	Ανθοφόροι οφθαλμοί
DC882672 Cryptomeria japonica xylem (sapwood-heartwood transition zone) Cryptomeria japonica cDNA clone CjTZ03E11, mRNA sequence	16	9,00E-11	88	<i>Cryptomeria japonica</i>	Ξύλο
AM723008 Cucumis melo subsp. melo Piel de Sapo Pinyonet torpedo root 15 days after pollination infected with M. cannonballus Cucumis melo subsp. melo cDNA, mRNA sequence	16	9,00E-11	88	<i>Cucumis melo</i>	Ρίζα
9RDBNGA_UP_174_E08_11MAR2006_056 Brassica napus 9RDBNGA Brassica napus cDNA 5', mRNA sequence	21	9,00E-11	83	<i>Brassica napus</i>	
EST3085 Zea mays sperm cell cDNA library Zea mays cDNA clone Zmsp7868 5', mRNA sequence	20	9,00E-11	83	<i>Zea mays</i>	
AU096865 Rice green shoot Oryza sativa Japonica Group cDNA clone S16406, mRNA sequence	15	9,00E-11	90	<i>Oryza sativa</i>	Βλαστός
vf731 cDNA Library from endosperm of tung oil tree Vernicia fordii cDNA similar to hypothetical protein, mRNA sequence	14	3,00E-10	91	<i>Vernicia fordii</i>	Ενδοσπέρμιο
DC890017 FBI Citrus unshiu cDNA clone FBI1882 5', mRNA sequence	11	3,00E-10	100	<i>Citrus unshiu</i>	
_38X_E02 Bermudagrass Normalized cDNA Library Cynodon dactylon cDNA 5', mRNA sequence	11	3,00E-10	98	<i>Cynodon dactylon</i>	
CG32-C1-003-045-G05-CT.F Mexican lime leaf, greenhouse plant Citrus aurantiifolia cDNA, mRNA sequence	14	3,00E-10	92	<i>Citrus aurantiifolia</i>	Φύλλα
Ltu01b_106_C11_C012.g2 Liriodendron Flower Bud Library Liriodendron tulipifera cDNA clone 122MAa_E22 5', mRNA sequence	20	3,00E-10	84	<i>Liriodendron tulipifera</i>	Ανθοφόροι οφθαλμοί
Mdlv3_4035a21.y1 Mdlv3 Malus x domestica cDNA clone Mdlv3_4035a21 5', mRNA sequence	15	3,00E-10	88	Malus sp.	
3530_1_21_1_G08.x_1 3530 - Full length cDNA library created by Invitrogen from multiple tissues Zea mays cDNA, mRNA sequence	17	3,00E-10	86	<i>Zea mays</i>	
CAST0002_IIIR_D11 Vitis vinifera cv. cabernet sauvignon Stem - CAST Vitis vinifera cDNA clone CAST0002_IIIR_D11 3', mRNA sequence	14	3,00E-10	91	<i>Vitis vinifera</i>	

		ALBEDO0001_IaF_H08 Mature Albedo Citrus sinensis cDNA clone ALBEDO0001_IaF_H08 5', mRNA sequence	12	3,00E-10	96	<i>Citrus sinensis</i>	
		AR2-1_P6_H10 Chickpea drought stressed cDNA SSH library AR2 Cicer arietinum cDNA, mRNA sequence	13	1,00E-09	92	<i>Cicer arietinum</i>	Ξηρασία
		L.alb_phloem_07-536 Lupinus albus phloem cDNA library Lupinus albus cDNA, mRNA sequence	15	1,00E-09	87	<i>Lupinus albus</i>	Ηθμός
		VBL6_6_O15_E001.g1 Normalized cDNA library from developing embryos of peanut Arachis hypogaea cDNA, mRNA sequence	12	1,00E-09	94	<i>Arachis hypogaea</i>	Έμβρυα
		VBL1_6_I18_E001.g1 Normalized cDNA library from cotyledon and young leaves of peanut Arachis hypogaea cDNA, mRNA sequence	12	1,00E-09	94	<i>Arachis hypogaea</i>	Κοτυληδόνες
		CsSSHR139 Camellia sinensis winter dormancy suppression subtractive hybridization library Camellia sinensis cDNA similar to Chalcone synthase, mRNA sequence	14	1,00E-09	91	<i>Camelia sinensis</i>	Chalcone synthase
		RTBOR1_6_A07.g2_A029 Roots plus added boron Pinus taeda cDNA clone RTBOR1_6_A07_A029 5', mRNA sequence	12	1,00E-09	93	<i>Pinus taeda</i>	
ON 33	663	MS22 Mango fruit tissue express library Mangifera indica cDNA, mRNA sequence	53	3,00E-63	76	<i>Mangifera indica</i>	Καρποι
		AL726261 Danio rerio embryonic inner ear subtracted cDNA Danio rerio cDNA clone BN0AA082ZB06 3', mRNA sequence	10	3,00E-25	99	<i>Danio rerio</i>	Έμβρυο
		FR730613 Pinus radiata stem 1 year old seedling stems Pinus radiata cDNA clone C10-192, mRNA sequence	10	1,00E-24	100	<i>Pinus radiata</i>	Βλαστοί σποροφύτων
		AS2-1_P8_G07 Chickpea drought stressed cDNA SSH library AS2 Cicer arietinum cDNA, mRNA sequence	10	1,00E-24	100	<i>Cicer arietinum</i>	Υδατικό στρες
		3E6_117 3E6 Camellia sinensis var. assamica cDNA clone A715 5', mRNA sequence	10	1,00E-24	100	<i>Camelia sinensis</i>	
		S1F_215 Assam Tea Drought 3rd and 4th Leaf Camellia sinensis var. assamica cDNA clone 225 5', mRNA sequence	10	1,00E-24	100	<i>Camelia sinensis</i>	Υδατικό στρες
		CP02-ES-002-018-D12-FC.F E-Sub(C-G) Moniliophthora perniciosa cDNA clone CP02-ES-002-018-D12-FC similar to Expressed protein, mRNA sequence	10	1,00E-24	100	<i>Moniliophthora perniciosa</i>	
		altr016xc01 A. brassicicola mycelial culture infecting B. oleracea Alternaria brassicicola cDNA clone altr016xc01, mRNA sequence	10	1,00E-24	100	<i>Brassica oleracea</i>	
		Gin-FeqS5ASeq2P5C09_M13_B08 Ginseng F. equiseti subtraction library Panax quinquefolius cDNA, mRNA sequence	12	3,00E-24	93	<i>Panax quinquefolius</i>	

	hasp018xm20 <i>Heterobasidion annosum</i> - Scots pine infection stage subtraction cDNA library (hasp) <i>Pinus sylvestris</i> / <i>Heterobasidion annosum</i> mixed EST library cDNA clone hasp018xm20, mRNA sequence	10	3,00E-24	100	<i>Heterobasidion annosum</i>	
	hsxa0_0006_H09.ab1 cucumber stamen suppression subtractive hybridization <i>Cucumis sativus</i> cDNA, mRNA sequence	10	1,00E-23	97	<i>Cucumis sativus</i>	Στήμονες



**Πίνακας 6.** Σύγκριση των αλληλουχιών που εκφράζονται στους οφθαλμούς των καρποφορούντων βραχιόνων (ON) με αλληλουχίες κατατεθειμένες στις διεθνείς βάσεις δεδομένων των φυτών για τα νουκλεοτίδια (BLAST-n).

Όνομα αποικίας	Μήκος αλληλουχίας (bp)	Ομόλογες αλληλουχίες από τη βάση δεδομένων (NCBI)	Ποσοστό "κάλυψης" (coverage) ομόλογης αλληλουχίας (%)	E-value	Ομολογία (identity) (%)	Οργανισμός	Χαρακτηρισμός γονιδίου ή οργάνου όπου δρα η ομόλογη γενετική πληροφορία
ON 4	1412	Ricinus communis chitinase, putative, mRNA	76	1,00E-118	69	<i>Ricinus communis</i>	Χιτινάση
		Arabidopsis thaliana Glycosyl hydrolase family protein with chitinase insertion domain (AT4G19810) mRNA, complete cds	70	2,00E-79	67	<i>Arabidopsis thaliana</i>	Οικογένεια Υδρολασών
		Arabidopsis thaliana chromosome 4, complete sequence	49	1,00E-62	72	<i>Arabidopsis thaliana</i>	Χρωμόσωμα 4
		Arabidopsis thaliana Full-length cDNA Complete sequence from clone GSLTPGH45ZE08 of Hormone Treated Callus of strain col-0 of Arabidopsis thaliana (thale cress)	11	4,00E-18	74	<i>Arabidopsis thaliana</i>	Κάλλος
		Vigna radiata actin mRNA, complete cds	2	3,00E-06	93	<i>Vigna radiata</i>	Actin
		Populus EST from mild drought-stressed leaves	3	1,00E-04	84	Populus sp.	Φύλλα
		Zea mays clone 1559677 O-sialoglycoprotein endopeptidase mRNA, complete cds	2	5,00E-04	94	Zea mays	Endopeptidase
		Nicotiana benthamiana NbrbohA mRNA for respiratory burst oxidase homolog, complete cds	3	0.006	84	Nicotiana benthamiana	mRNA
		Pyrus pyrifolia chloroplast DNA, complete sequence, cultivar: Hosui	4	0.020	81	Pyrus pyrifolia	Χλωροπλάστης
		Dendrobium hybrid cultivar Karen 1-aminocyclopropane-1-carboxylate synthase (ACS) mRNA, complete cds	4	0.020	75	Dendrobium sp.	1-aminocyclopropane-1-carboxylate synthase
ON 8	769	Gossypium hirsutum gibberellic acid receptor mRNA, complete cds	56	6,00E-107	8	<i>Gossypium hirsutum</i>	Υποδοχέας Γιββερελλίνης
		Actinidia deliciosa CXE carboxylesterase (CXE9) mRNA, complete cds	64	3,00E-104	77	<i>Actinidia deliciosa</i>	CXE carboxylesterase
		Arabidopsis thaliana DNA chromosome 3, BAC clone T20O10	50	2,00E-99	81	<i>Arabidopsis thaliana</i>	Χρωμόσωμα 3
		Arabidopsis thaliana Full-length cDNA Complete sequence from clone GSLTFB5ZF09 of Flowers and buds of strain col-0 of Arabidopsis thaliana (thale cress)	50	1,00E-97	81	<i>Arabidopsis thaliana</i>	Οφθαλμοί και άνθη

ON 12	587	Ricinus communis cytochrome-c oxidase, putative, mRNA	57	1,00E-64	77	<i>Ricinus communis</i>	Οξειδάση του κυτοχρόματος-c
		Populus EST from severe drought-stressed opposite wood	51	2,00E-49	75	Populus sp.	Ξύλο
		Arabidopsis thaliana chromosome 4, complete sequence	32	3,00E-08	9	<i>Arabidopsis thaliana</i>	Χρωμόσωμα 4
		Panax quinquefolius 60S ribosomal protein L6-like protein mRNA, complete cds	8	1,00E-07	87	<i>Panax quinquefolius</i>	60S ribosomal protein
		Petroselinum crispum plastidic 3-deoxy-D-arabino-heptulosonate 7-phosphate synthase 2 (pDAHPS2) mRNA, nuclear gene encoding plastid protein, complete cds	7	1,00E-07	91	<i>Petroselinum crispum</i>	plastidic 3-deoxy-D-arabino-heptulosonate 7-phosphate synthase 2
		Rubia cordifolia peroxidase 5 mRNA, complete cds	6	4,00E-07	97	<i>Rubia cordifolia</i>	Περοξυδάση
		Pericallis cruenta chalcone isomerase mRNA, partial cds	6	4,00E-07	95	<i>Pericallis cruenta</i>	Ισομεράση
ON 13	555	Glycine max cultivar Essex Rhg4-like receptor kinase I (Rhg4) mRNA, complete cds	72	7,00E-98	8	<i>Glycine max</i>	Υποδοχέας Κινάσης
		Arabidopsis lyrata subsp. lyrata leucine-rich repeat family protein, mRNA	72	3,00E-71	75	<i>Arabidopsis lyrata</i>	leucine-rich repeat protein
		Arabidopsis thaliana chromosome 3, complete sequence	80	3,00E-65	96	<i>Arabidopsis thaliana</i>	Χρωμόσωμα 3
ON 16	245	Cucumis melo subsp. melo mitochondrial sequence	19	0.13	82	<i>Cucumis melo</i>	mitochondrial sequence
		Solanum furfuraceum isolate S143/S007 maturase K (matK) gene, partial cds; chloroplast	22	0.45	79	<i>Solanum furfuraceum</i>	maturase K
		Arabidopsis thaliana ATP binding / aminoacyl-tRNA ligase/ nucleotide binding protein (AT2G35080) mRNA, complete cds	13	1.6	88	<i>Arabidopsis thaliana</i>	aminoacyl-tRNA ligase
		Arabidopsis thaliana chaperone DnaJ-domain containing protein (AT5G37440) mRNA, complete cds	8	1.6	1	<i>Arabidopsis thaliana</i>	Chaperone DnaJ protein
		Medicago truncatula DNA repair protein recA-like protein (MTR_7g090820) mRNA, complete cds	13	5.5	85	<i>Medicago truncatula</i>	recA-like protein
		Arabidopsis thaliana chromosome 4, complete sequence	9	5.5	96	<i>Arabidopsis thaliana</i>	Χρωμόσωμα 4
		Coccoloba pyrifolia photosystem II protein D1 (psbA) gene, partial cds; psbA-trnH intergenic spacer, complete sequence; and tRNA-His gene, partial sequence; chloroplast	15	5.5	82	<i>Coccoloba pyrifolia</i>	photosystem II protein D1
ON 20	114	Ricinus communis ATP binding protein, putative, mRNA	94	2,00E-37	78	<i>Ricinus communis</i>	ATP binding protein
		Arabidopsis thaliana chromosome 2, complete sequence	27,00	1,00E-08	84	<i>Arabidopsis thaliana</i>	Χρωμόσωμα 2
		Arabidopsis thaliana octicosapeptide/Phox/Be.1 domain-containing protein (AT2G01190) mRNA, complete cds	27	1,00E-08	84	<i>Arabidopsis thaliana</i>	octicosapeptide/Phox/Be.1 domain-containing protein

		Arabidopsis thaliana Full-length cDNA Complete sequence from clone GSLTFB54ZB04 of Flowers and buds of strain col-0 of Arabidopsis thaliana (thale cress)	27	1,00E-08	84	<i>Arabidopsis thaliana</i>	Οφθαλμοί και άνθη
		Populus EST from severe drought-stressed opposite wood	17	0.032	85	Populus sp.	Ξύλο
ON 25	814	Populus EST from mild drought-stressed leaves	15	6,00E-38	89	Populus sp.	Φύλλα
		Medicago truncatula Blue copper protein (MTR_4g114870) mRNA, complete cds	36	1,00E-15	69	<i>Medicago truncatula</i>	Blue copper protein
		Ricinus communis Cucumber peeling cupredoxin, putative, mRNA	26	2,00E-12	7	<i>Ricinus communis</i>	Cupredoxin
		Ligularia fischeri S-adenosyl-L-homocysteine hydrolase (SAHH) mRNA, partial cds	6	4,00E-08	9	<i>Ligularia fischeri</i>	Υδρολάση
		Lotus japonicus cDNA, clone: LjFL2-025-CC01, HTC	35	2,00E-05	65	<i>Lotus japonicus</i>	HTC
		Arabidopsis thaliana RING-H2 finger protein RHA1b mRNA, complete cds	6	0.001	81	<i>Arabidopsis thaliana</i>	finger protein RHA1b
		Brassica rapa SRK-60, SLG-60 genes for S receptor kinase, S-locus glycoprotein, partial cds	5	0.14	82	<i>Brassica rapa</i>	Υποδοχέας Κινάσης
		Arabidopsis thaliana chromosome 4, complete sequence	13	1.7	76	<i>Arabidopsis thaliana</i>	Χρωμόσωμα 4
		Arabidopsis thaliana chromosome 5, complete sequence	3	5.8	92	<i>Arabidopsis thaliana</i>	Χρωμόσωμα 5
ON 26	219	Ricinus communis ATP binding protein, putative, mRNA	94	2,00E-37	78	<i>Ricinus communis</i>	ATP binding protein
		Solanum lycopersicum cDNA, clone: LEFL2004M18, HTC in fruit	91	1,00E-20	73	<i>Solanum lycopersicum</i>	HTC
		Arabidopsis thaliana Full-length cDNA Complete sequence from clone GSLTFB54ZB04 of Flowers and buds of strain col-0 of Arabidopsis thaliana (thale cress)	27	1,00E-08	84	<i>Arabidopsis thaliana</i>	Οφθαλμοί και άνθη
		Arabidopsis lyrata subsp. lyrata octicosapeptide/Phox/Bem1p domain-containing protein, mRNA	25	0.009	78	<i>Arabidopsis lyrata</i>	Octicosapeptide/Phox/Bem1p
		Arabidopsis lyrata subsp. lyrata PHD finger family protein, mRNA	16	1.4	83	<i>Arabidopsis lyrata</i>	PHD finger family protein
ON 28	660	Vitis pseudoreticulata pathogenesis-related protein 4 mRNA, complete cds	59	2,00E-80	77	<i>Vitis pseudoreticulata</i>	Πρωτεΐνη παθογένειας
		Ricinus communis Wound-induced protein WIN1 precursor, putative, mRNA	55	3,00E-66	76	<i>Ricinus communis</i>	Πρωτεΐνη πληγών
		Populus tremula x Populus alba clone INRA 717 1B-4 hevein-like mRNA, complete cds	55	9,00E-60	75	Populus spp.	hevein-like
		Capsicum annum proteinase inhibitor mRNA, partial cds	45	4,00E-45	74	<i>Capsicum annum</i>	proteinase inhibitor
		Arabidopsis thaliana hevein-like protein precursor (F7O18.21) mRNA, complete cds	55	5,00E-44	72	<i>Arabidopsis thaliana</i>	hevein-like protein precursor

		Solanum lycopersicum cDNA, clone: LEFL1075BF05, HTC in leaf	46	6,00E-37	72	<i>Solanum lycopersicum</i>	HTC - Φύλλα
ON 29	416	Nicotiana tabacum partial mRNA for putative extensin (EXT gene), clone EBR-59	44	5,00E-22	83	<i>Nicotiana tabacum</i>	extensin
		Nicotiana sylvestris Ext1.2B gene for extensin	43	5,00E-22	83	<i>Nicotiana sylvestris</i>	2B gene for extensin
		Arabidopsis thaliana chromosome 1 BAC F28B23 genomic sequence, complete sequence	42	6,00E-15	82	<i>Arabidopsis thaliana</i>	Χρωμόσωμα 1
		Soybean hydroxyproline-rich glycoprotein (sbHRGP3) mRNA, partial cds	47	6,00E-15	81	<i>Glycine max</i>	hydroxyproline-rich glycoprotein
		Pisum sativum clone PsEXT3.28 root nodule extensin mRNA, partial cds	43	6,00E-09	75	<i>Pisum sativum</i>	Extensin - ρίζες
		Fragaria x ananassa microsatellite DNA, locus UFFa08c11	28	2,00E-08	72	<i>Fragaria x ananassa</i>	microsatellite DNA
ON 30	363	Triticum aestivum partial precursor RNA for isoamylase (iso-1b gene)	12	3,00E-11	96	<i>Triticum aestivum</i>	isoamylase
		Theobroma cacao oxalate oxidase mRNA, complete cds	10	1,00E-09	1	<i>Theobroma cacao</i>	oxalate oxidase
		Hevea brasiliensis cis-prenyltransferase 5 (Hpt5) mRNA, complete cds	13	1,00E-09	92	<i>Hevea brasiliensis</i>	cis-prenyltransferase 5
		Cistus creticus subsp. creticus copal-8-ol diphosphate synthase (CLS) mRNA, complete cds	14	5,00E-09	9	<i>Cistus creticus</i>	copal-8-ol diphosphate synthase
		Populus EST from severe drought-stressed opposite wood	14	5,00E-09	9	Populus sp.	Ξύλο
		Medicago truncatula chromosome 8 clone mth2-139i19, complete sequence	15	5,00E-09	95	<i>Medicago truncatula</i>	Χρωμόσωμα 8
		B.napus proline-rich mRNA accumulating during pod development >gb S68113.1  proline-rich SAC51 [Brassica napus=oilseed rape, pods, mRNA, 756 nt]	12	2,00E-08	9	<i>Beta napus</i>	proline-rich
		Lilium longiflorum farnesyl pyrophosphate synthase (FPPS) mRNA, complete cds	11	6,00E-08	93	<i>Lilium longiflorum</i>	farnesyl pyrophosphate synthase
ON 33	663	Populus EST from mild drought-stressed leaves	12	3,00E-15	83	Populus sp.	Φύλλα
		Zea mays metal ion binding protein (LOC100284628), mRNA complete cds	8	1,00E-07	84	<i>Zea mays</i>	Πρωτεΐνη πρόσδεσης ιόντων
		Zea mays clone 419523 nonspecific lipid-transfer protein 3 precursor, mRNA, complete cds	7	4,00E-07	84	<i>Zea mays</i>	Πρωτεΐνη μεταφοράς λιπιδίων
		Lotus japonicus genomic DNA, chromosome 3, clone: LjT11L19, TM0070, complete sequence	7	1,00E-06	84	<i>Lotus japonicus</i>	Χρωμόσωμα 3
		Chlamydomonas reinhardtii strain CC425 Mn superoxide dismutase 5 (MSD5) mRNA, partial cds	4	6,00E-05	97	<i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	Mn superoxide dismutase 5

**Πίνακας 7.** Σύγκριση των αλληλουχιών που εκφράζονται στους οφθαλμούς των καρποφορούντων βραχιόνων (ON) με αλληλουχίες κατατεθειμένες στις διεθνείς βάσεις δεδομένων των φυτών για τις πρωτεΐνες (BLAST-x).

Όνομα αποικίας	Μήκος αλληλουχίας (bp)	Ομόλογες αλληλουχίες από τη βάση δεδομένων (NCBI)	Ποσοστό "κάλυψης" (coverage) ομόλογης αλληλουχίας (%)	E-value	Ομολογία (identity) (%)	Οργανισμός	Χαρακτηρισμός γονιδίου ή οργάνου όπου δρα η ομόλογη γενετική πληροφορία
ON 4	1412	chitinase, putative [ <i>Ricinus communis</i> ]	75	9,00E-162	66	<i>Ricinus communis</i>	chitinase
		glycosyl hydrolase family 18 protein [ <i>Arabidopsis lyrata</i> subsp. <i>lyrata</i> ]	70	3,00E-155	65	<i>Arabidopsis lyrata</i>	glycosyl hydrolase family 18 protein
		Glycosyl hydrolase family protein with chitinase insertion domain [ <i>Arabidopsis thaliana</i> ] >emb CAB78984.1  putative chitinase [ <i>Arabidopsis thaliana</i> ] >gb AEE84229.1  Glycosyl hydrolase family protein with chitinase insertion domain [ <i>Arabidopsis thaliana</i> ]	69	3,00E-134	60	<i>Arabidopsis thaliana</i>	Glycosyl hydrolase family protein
		PREDICTED: chitotriosidase-1-like [ <i>Glycine max</i> ]	69	2,00E-113	52	<i>Glycine max</i>	Chitotriosidase
		receptor-like kinase CHRK1 [ <i>Nicotiana tabacum</i> ]	68	6,00E-68	39	<i>Nicotiana tabacum</i>	receptor-like kinase CHRK1
ON 8	769	gibberellic acid receptor [ <i>Gossypium hirsutum</i> ]	52	3,00E-89	88	<i>Gossypium hirsutum</i>	gibberellic acid receptor
		CXE carboxylesterase [ <i>Actinidia deliciosa</i> ]	52	1,00E-86	88	<i>Actinidia deliciosa</i>	CXE carboxylesterase
		Acetyl esterase, putative [ <i>Ricinus communis</i> ]	50	5,00E-37	43	<i>Ricinus communis</i>	Acetyl esterase
		PREDICTED: probable carboxylesterase 18-like [ <i>Vitis vinifera</i> ]	51	8,00E-37	46	<i>Vitis vinifera</i>	carboxylesterase
		esterase [ <i>Cucumis melo</i> ]	50	1,00E-32	43	<i>Cucumis melo</i>	esterase
		Arylacetamide deacetylase-like protein [ <i>Medicago truncatula</i> ]	51	4,00E-32	41	<i>Medicago truncatula</i>	Arylacetamide deacetylase-like
		Neutral cholesterol ester hydrolase [ <i>Medicago truncatula</i> ]	51	5,00E-31	40	<i>Medicago truncatula</i>	Neutral cholesterol ester hydrolase
ON 12	587	cytochrome-c oxidase, putative [ <i>Ricinus communis</i> ]	51	7,00E-45	79	<i>Ricinus communis</i>	cytochrome-c oxidase
		red chlorophyll catabolite reductase [ <i>Marchantia polymorpha</i> ]	6	0.001	75	<i>Marchantia polymorpha</i>	red chlorophyll catabolite reductase
ON 13	555	PREDICTED: probable receptor protein kinase TMK1-like [ <i>Glycine max</i> ]	72	2,00E-72	82	<i>Glycine max</i>	receptor protein kinase
		Protein kinase APK1A, chloroplast precursor, putative [ <i>Ricinus communis</i> ]	72	2,00E-72	82	<i>Ricinus communis</i>	Protein kinase

		leucine-rich repeat family protein [Arabidopsis lyrata subsp. lyrata]	72	5,00E-69	79	<i>Arabidopsis thaliana</i>	leucine-rich repeat family protein
		receptor-like kinase RHG4 [Glycine max] >gb AAM44275.1  receptor-like kinase RHG4 [Glycine max] >gb AAN80746.1  receptor-like kinase RHG4 [Glycine max]	72	2,00E-68	79	<i>Glycine max</i>	receptor-like kinase RHG4
		leucine-rich repeat receptor-like kinase [Glycine max]	72	8,00E-67	79	<i>Glycine max</i>	leucine-rich repeat receptor-like kinase
		LRR receptor-like protein kinase [Nicotiana tabacum]	72	6,00E-52	63	<i>Nicotiana tabacum</i>	LRR receptor-like protein kinase
		putative receptor protein kinase (TMK1) [Arabidopsis thaliana] >dbj BAF00566.1  putative receptor protein kinase [Arabidopsis thaliana]	72	1,00E-51	61	<i>Arabidopsis thaliana</i>	putative receptor protein kinase (TMK1)
		Serine/threonine-protein kinase PBS1, putative [Ricinus communis]	70	4,00E-41	53	<i>Ricinus communis</i>	Serine/threonine-protein kinase PBS1
ON 16	245	hypothetical protein VITISV_037242 [Vitis vinifera]	63	9,00E-06	40	<i>Vitis vinifera</i>	protein VITISV
		hypothetical chloroplast RF1 [Schizomeris leibleinii]	82	4,00E-05	30	<i>Schizomeris leibleinii</i>	chloroplast RF1
		hypothetical protein LOC_Os11g07240 [Oryza sativa Japonica Group] >gb ABA91655.1  Leucine Rich Repeat family protein [Oryza sativa Japonica Group]	36	3,00E-04	57	<i>Oryza sativa</i>	Leucine Rich Repeat family protein
ON 20	114	extensin 4 [Arabidopsis thaliana] >gb AEE35905.1  extensin 4 [Arabidopsis thaliana]	92	3,00E-07	52	<i>Arabidopsis thaliana</i>	Extensin
		Pistil-specific extensin-like protein [Medicago truncatula]	94	2,00E-05	44	<i>Medicago truncatula</i>	Pistil-specific extensin-like
		PREDICTED: squamosa promoter-binding-like protein 8-like [Glycine max]	76	1,00E-04	41	<i>Glycine max</i>	Squamosa promoter
		PREDICTED: probable WRKY transcription factor 7 [Vitis vinifera]	84	1,00E-04	41	<i>Vitis vinifera</i>	WRKY transcription factor
		PREDICTED: probable VAMP-like protein At1g33475-like [Glycine max]	86	2,00E-04	42	<i>Glycine max</i>	VAMP-like protein
		putative plastidic general dicarboxylate transporter [Oryza sativa Japonica Group]	76	2,00E-04	55	<i>Oryza sativa</i>	dicarboxylate transporter
		guanylyl and adenylyl cyclase family member [Volvox carteri f. nagariensis]	76	2,00E-04	38	<i>Volvox carteri</i>	Guanylyl and adenylyl cyclase
		C3H4 type zinc finger protein [Arabidopsis thaliana] >gb ABP88114.1  At3g10810 [Arabidopsis thaliana] >gb AEE74957.1  C3H4 type zinc finger protein [Arabidopsis thaliana]	92	3,00E-04		<i>Arabidopsis thaliana</i>	C3H4 type zinc finger protein
putative RING zinc finger protein [Arabidopsis thaliana]	92	3,00E-04	37	<i>Arabidopsis thaliana</i>	RING zinc finger protein		

		BEL1-like homeodomain 4 [Arabidopsis thaliana] >ref NP_850044.1  BEL1-like homeodomain 4 [Arabidopsis thaliana] >ref NP_001031404.1  BEL1-like homeodomain 4 [Arabidopsis thaliana] >sp Q94KL5.2 BLH4_ARATH RecName: Full=BEL1-like homeodomain protein 4; Short=BEL1-like protein 4; AltName: Full=Protein SAWTOOTH 2 >gb AEC07487.1  BEL1-like homeodomain 4 [Arabidopsis thaliana] >gb AEC07488.1  BEL1-like homeodomain 4 [Arabidopsis thaliana]	50	4,00E-04	55	<i>Arabidopsis thaliana</i>	homeodomain transcription factor
		auxin-induced basic helix-loop-helix transcription factor [Gossypium hirsutum]	89	8,00E-04	44	<i>Gossypium hirsutum</i>	auxin-induced basic helix-loop-helix transcription factor
		PREDICTED: probable transcription factor KAN4-like [Glycine max]	100	8,00E-04	40	<i>Glycine max</i>	transcription factor KAN4
		WRKY protein [Cucumis sativus] >gb ADU52505.1  WRKY protein [Cucumis sativus]	50	8,00E-04	58	<i>Cucumis sativus</i>	WRKY protein
		trypsin/chymotrypsin inhibitor [Pisum sativum]	65	0.001	40	<i>Pisum sativum</i>	trypsin/chymotrypsin inhibitor
ON 25	814	blue copper protein precursor [Zea mays]	43	5,00E-29	49	<i>Zea mays</i>	blue copper protein precursor
		copper binding protein 5 [Gossypium hirsutum]	44	6,00E-29	53	<i>Gossypium hirsutum</i>	copper binding protein 5
		dicyanin precursor [Solanum lycopersicum]	45	4,00E-26	50	<i>Solanum lycopersicum</i>	dicyanin precursor
		Cucumber peeling cupredoxin, putative [Ricinus communis]	46	5,00E-26	51	<i>Ricinus communis</i>	peeling cupredoxin
		PREDICTED: mavicyanin-like [Glycine max]	46	4,00E-25	41	<i>Glycine max</i>	mavicyanin-like
		putative phytocyanin [Pinus ponderosa]	40	9,00E-24	52	<i>Pinus ponderosa</i>	phytocyanin
		Uclacyanin-2 precursor, putative [Ricinus communis]	46	2,00E-23	44	<i>Ricinus communis</i>	Uclacyanin-2 precursor
		putative phytocyanin [Pinus pinaster]	40	2,00E-23	51	<i>Pinus pinaster</i>	phytocyanin
		Early nodulin-like protein [Medicago truncatula]	43	4,00E-22	42	<i>Medicago truncatula</i>	nodulin-like protein
ON 26	219	ATP binding protein, putative [Ricinus communis]	97	5,00E-31	70	<i>Ricinus communis</i>	ATP binding protein
		seed length and weight protein long form for short seed [Oryza sativa Indica Group]	78	4,00E-06	35	<i>Oryza sativa</i>	
		octicosapeptide/Phox/Bem1p domain-containing protein [Arabidopsis thaliana] >emb CAC01863.1  putative protein [Arabidopsis thaliana] >gb AAL32636.1  putative protein [Arabidopsis thaliana] >gb AAO30043.1  putative protein [Arabidopsis thaliana] >gb AED92262.1  octicosapeptide/Phox/Bem1p domain-containing protein [Arabidopsis thaliana]	27	6,00E-05	70	<i>Arabidopsis thaliana</i>	

ON 28	660	pathogenesis-related protein 4 [ <i>Vitis pseudoreticulata</i> ]	65	1,00E-86	80	<i>Vitis pseudoreticulata</i>	pathogenesis-related protein 4
		Wound-induced protein WIN1 precursor, putative [ <i>Ricinus communis</i> ]	64	2,00E-77	73	<i>Ricinus communis</i>	Wound-induced protein WIN1
		putative vacuolar defense protein [ <i>Triticum aestivum</i> ]	60	6,00E-73	71	<i>Triticum aestivum</i>	putative vacuolar defense protein
		hevein-like [ <i>Populus tremula</i> x <i>Populus alba</i> ]	55	1,00E-71	77	<i>Populus</i> sp.	hevein-like
		Chain A, Three-Dimensional Structure In Solution Of Barwin, A Protein From Barley Seed >pdb 1BW4 A Chain A, Three-Dimensional Structure In Solution Of Barwin, A Protein From Barley Seed	55	3,00E-68	74	<i>Hordeum vulgare</i>	
		wound-induced protein CBP1 precursor [ <i>Capsicum annuum</i> ]	55	1,00E-62	71	<i>Capsicum annuum</i>	wound-induced protein CBP1
		proteinase inhibitor [ <i>Capsicum annuum</i> ]	46	6,00E-62	78	<i>Capsicum annuum</i>	proteinase inhibitor
		defence-related protein precursor [ <i>Zea mays</i> ] >emb CAA57674.1  defence-related protein [ <i>Zea mays</i> ]	56	5,00E-58	64	<i>Zea mays</i>	defence-related protein precursor
ON 29	416	predicted protein [ <i>Populus trichocarpa</i> ]	32	5,00E-08	59	<i>Populus trichocarpa</i>	
		hypothetical protein VITISV_036363 [ <i>Vitis vinifera</i> ]	32	2,00E-07	53	<i>Vitis vinifera</i>	protein VITISV
ON 30	363	auxin:hydrogen symporter, putative [ <i>Ricinus communis</i> ]	52	9,00E-06	31	<i>Ricinus communis</i>	auxin:hydrogen symporter
ON 33	663	metal ion binding protein, putative [ <i>Ricinus communis</i> ]	13	9,00E-07	67	<i>Ricinus communis</i>	metal ion binding protein



**Πίνακας 8.** Σύγκριση των αλληλουχιών που εκφράζονται στους οφθαλμούς των μη-καρποφορούντων βραχιόνων (OFF) με αλληλουχίες κατατεθειμένες στις διεθνείς βάσεις δεδομένων των φυτών για τα EST (BLAST-EST).

Όνομα αποικίας	Μήκος αλληλουχίας (bp)	Ομόλογες αλληλουχίες από τη βάση δεδομένων (NCBI)	Ποσοστό "κάλυψης" (coverage) ομόλογης αλληλουχίας (%)	E-value	Ομολογία (identity) (%)	Οργανισμός	Χαρακτηρισμός γονιδίου ή οργάνου όπου δρα η ομόλογη γενετική πληροφορία
OFF 7	522	CU550277 EPIC23I_KZ0AAS Theobroma cacao cDNA clone KZ0AAS1YB05, mRNA sequence	100	4,00E-144	82	<i>Theobroma cacao</i>	
		UFL_268_20 Cotton fiber 0-10 day post anthesis Gossypium hirsutum cDNA, mRNA sequence	100	2,00E-141	82	<i>Gossypium hirsutum</i>	Ίνα
		PvF04_G10 Pistacia male and female panicles Pistacia vera cDNA, mRNA sequence	52	1,00E-136	99	<i>Pistacia vera</i>	male and female panicles
		CGF1003960_C05 Seed coat from mid-season walnut embryos collected Aug 1 Juglans regia cDNA clone WSC0010_IIF_C05 5', mRNA sequence	97	1,00E-136	81	<i>Juglans regia</i>	Έμβρυο
		Mdfrg3155M20.g1 Apple_EST_Mdfrg Malus x domestica cDNA 5' similar to dbj BAB92996.1  chalcone synthase [Malus x domestica], mRNA sequence	98	6,00E-135	81	Malus sp.	chalcone synthase
		000724KAAA004688HT (KAAA) A. deliciosa developing shoot buds Actinidia deliciosa cDNA clone KAAAA00468, mRNA sequence	97	2,00E-134	81	<i>Actinidia deliciosa</i>	Οφθαλμοί
		020906KALA010571HT (KALA) Dormant kiwifruit buds three days after hydrogen cyanamide treatment Actinidia deliciosa cDNA clone KALAA01057, mRNA sequence	98	8,00E-134	81	<i>Actinidia deliciosa</i>	Οφθαλμοί
OFF 8	145	S3P4F11_011_TRA_4103 Camellia assamica S3 cDNA library Camellia sinensis var. assamica cDNA 5', mRNA sequence	99	2,00E-64	100	<i>Camellia sinensis</i>	
		TSB1_545 Suppression subtracted cDNA library TSB1 of fusarium wilt stressed Cicer arietinum cDNA Cicer arietinum cDNA, mRNA sequence	97	2,00E-63	100	<i>Cicer arietinum</i>	Καταπόνηση από φουζάριο
		CCASHAFL07c08R Pigeonpea Asha flood stressed cDNA Library Cajanus cajan cDNA, mRNA sequence	99	2,00E-63	99	<i>Cajanus cajan</i>	Υδατικό στρες
OFF 9	92	Pp5G10 PpCK16h Pinus pinea cDNA, mRNA sequence	84	7,00E-29	98	<i>Pinus pinea</i>	
		TSB1_40 Suppression subtracted cDNA library TSB1 of fusarium wilt stressed Cicer arietinum cDNA Cicer arietinum cDNA, mRNA sequence	97	8,00E-28	99	<i>Cicer arietinum</i>	

		CCUPASBUD02b11R Pigeonpea UPAS120 BUD cDNA Library Cajanus cajan cDNA, mRNA sequence	100	4,00E-26	96	<i>Cajanus cajan</i>	Οφθαλμοί
		CCASHAFL03g10F Pigeonpea Asha flood stressed cDNA Library Cajanus cajan cDNA, mRNA sequence	79	4,00E-26	97	<i>Cajanus cajan</i>	Υδατικό στρες
		S4-2-a10 Subtracted library of Pettunia between double and single flower trait Petunia x hybrida cDNA, mRNA sequence	77	4,00E-26	100	Petunia sp.	Άνθη
		SSH2_402_TRA_767 Camellia assamica BWSSH2TFL cDNA library Camellia sinensis var. assamica cDNA 5', mRNA sequence	76	1,00E-25	99	<i>Camellia sinensis</i>	
		3E4_A155_TRA_1436 Camellia assamica WS3A3 cDNA library Camellia sinensis var. assamica cDNA, mRNA sequence	76	1,00E-25	99	<i>Camellia sinensis</i>	
		TSB1_829 Suppression subtracted cDNA library TSB1 of fusarium wilt stressed Cicer arietinum cDNA Cicer arietinum cDNA, mRNA sequence	76	1,00E-25	99	<i>Cicer arietinum</i>	Καταπόνηση από φουζάριο
		AS2-1_P6_E08 Chickpea drought stressed cDNA SSH library AS2 Cicer arietinum cDNA, mRNA sequence	78	1,00E-25	100	<i>Cicer arietinum</i>	Υδατικό στρες
		S4-6-f2 Subtracted library of Pettunia between double and single flower trait Petunia x hybrida cDNA, mRNA sequence	76	1,00E-25	99	Petunia sp.	Άνθη
OFF 10	353	UFL_572_71 Cotton fiber 0-10 day post anthesis Gossypium hirsutum cDNA, mRNA sequence	98	2,00E-165	98	<i>Gossypium hirsutum</i>	Ίνα
		CSAD-PNP1242L07 Developing fruit flavedo at 165 DAFB Citrus sinensis cDNA clone CSAD-PNP1242L07 5', mRNA sequence	98	2,00E-164	97	<i>Citrus sinensis</i>	Καρπός
		GH_OVfbl_01-01-23R_A11_InvR_11Feb04_095_R Ovules - day of anthesis from a fiberless mutant Gossypium hirsutum cDNA, mRNA sequence	98	7,00E-164	97	<i>Gossypium hirsutum</i>	Ωοθήκη
		BNLGH16531 Six-day Cotton fiber Gossypium hirsutum cDNA 5' similar to (AJ004810) cytochrome P450 monooxygenase [Zea mays], mRNA sequence	98	8,00E-163	97	<i>Gossypium hirsutum</i>	Ίνα
		GL-XY-001_CN-052_C10 Xylem vascular tissue, differentiating (EUGL-XY) Eucalyptus globulus cDNA clone GL-XY-001_CN- 052_C10 5', mRNA sequence	98	1,00E-161	97	<i>Eucalyptus globulus</i>	Ξύλο
OFF 13	287	60A10 Flax fiber enriched Lambda ZapII Library Linum usitatissimum cDNA 3', mRNA sequence	52	1,00E-25	84	<i>Linum usitatissimum</i>	
		QHB8L22.yg.ab1 QH_ABCDI sunflower RHA801 Helianthus annuus cDNA clone QHB8L22, mRNA sequence	44	2,00E-23	81	<i>Helianthus annuus</i>	

		PO06008H11 Subtractive cDNA library from laminarin-treated poplar suspension cells <i>Populus alba</i> x <i>Populus tremula</i> var. <i>glandulosa</i> cDNA clone PO06008H11 5', mRNA sequence	56	1,00E-19	74	<i>Populus</i> sp.	Κύτταρα
		RCRCS12TP Castor bean cDNA library from roots, 1.8 kb <i>Ricinus communis</i> cDNA clone RCRCS12, mRNA sequence	54	1,00E-19	74	<i>Ricinus communis</i>	Ρίζες
		UA19CPH06 <i>Populus tremula</i> cambium cDNA library <i>Populus tremula</i> cDNA 5 prime, mRNA sequence	56	1,00E-19	74	<i>Populus tremula</i>	Κάμβιο
		RCSBZ77TP Castor bean cDNA library from seeds (12-33 days after pollination), 1.4 kb <i>Ricinus communis</i> cDNA clone RCSBZ77, mRNA sequence	51	5,00E-19	100	<i>Ricinus communis</i>	Σπόροι
		PAB908b02_00643 <i>Parthenium argentatum</i> cold acclimated bark cDNA library (PAB) <i>Parthenium argentatum</i> cDNA clone PAB908b02, mRNA sequence	31	6,00E-18	89	<i>Parthenium argentatum</i>	Φλοιός
		D07_69-109_07.ab1 leaf inoculated with Marssonina pathogen of <i>Populus deltoides</i> <i>Populus deltoides</i> cDNA, mRNA sequence	71	2,00E-17	92	<i>Populus deltoides</i>	Φύλλα
		CS00-C3-702-037-A08-CT.F Sweet orange fruit, development stadium (3 of 6) <i>Citrus sinensis</i> cDNA, mRNA sequence	44	4,00E-14	75	<i>Citrus sinensis</i>	Καρπός
		021210KALB999035HT (KALB) Kiwifruit transcription factor enriched library (from KALA library) <i>Actinidia deliciosa</i> cDNA clone KALBB99903, mRNA sequence	58	2,00E-12	71	<i>Actinidia deliciosa</i>	Μεταγραφικός κπαράγοντας
		030604KAZB005084HT (KAZB) <i>Actinidia chinensis</i> young fruit library <i>Actinidia chinensis</i> cDNA clone KAZBB00508, mRNA sequence	62	6,00E-12	78	<i>Actinidia chinensis</i>	Καρπός
OFF 17	857	FP048221 LG0AAC <i>Quercus petraea</i> cDNA clone LG0AAC18YL10RM1 similar to Pp GI.3 TC87553 homologue to emb X13557.1 LE25SRIB Tomato 25S ribosomal RNA gene, mRNA sequence	64	0.0	99	<i>Quercus petraea</i>	25S ribosomal RNA
		CGF2003471_A10 WRO-02: Walnut root <i>Juglans hindsii</i> x <i>Juglans regia</i> cDNA clone WRO-02-7_I_A10 5', mRNA sequence	64	0.0	98	<i>Juglans</i> sp.	Ρίζα
		CsSSHFD1032 <i>Camellia sinensis</i> drought suppression subtractive hybridization library <i>Camellia sinensis</i> cDNA similar to cytochrome P450-like TBP protein, mRNA sequence	64	0.0	98	<i>Camellia sinensis</i>	cytochrome P450-like
		L2EC2 SSH cDNA library of tea callus ( <i>Camellia sinensis</i> ) induced by freezing stress <i>Camellia sinensis</i> cDNA clone L2EC2, mRNA sequence	64	0.0	98	<i>Camellia sinensis</i>	Κάλλος
		A_K22_F11_0414F_p2 <i>Olea europaea</i> cv. Leccino fruitlet <i>Olea europaea</i> cDNA, mRNA sequence	64	0.0	98	<i>Olea europaea</i>	Καρπίδια

		C. annuum TP27F01 drought stressed C. annuum root forward SSH library Capsicum annuum cDNA clone TP27F01, mRNA sequence	64	0.0	98	<i>Capsicum annuum</i>	Υδατικό στρες
OFF 21	278	CGF2018434_G02 Punica granatum cv. Wonderful Mixed fruit peels Punica granatum cDNA 5', mRNA sequence	99	2,00E-131	98	<i>Punica granatum</i>	Καρπός
		RDHPTA6NF1TS6050Tb0501270057/s13dHL057C02TR006_1 Humulus lupulus (L. cultivar Phoenix) Trichome isolated from the female flower at mid-developmental stage Humulus lupulus cDNA, mRNA sequence	98	2,00E-131	99	<i>Humulus lupulus</i>	Άνθη
		276g_G08_014 ovule cDNA library of a seedless grape (Vitis vinifera var. Thomson seedless) Vitis vinifera cDNA, mRNA sequence	97	7,00E-131	99	<i>Vitis vinifera</i>	Καρπός
		EST 716 'Fleshless' Ugni blanc SSH Library Vitis vinifera cDNA clone G3b_G01, mRNA sequence	97	7,00E-131	99	<i>Vitis vinifera</i>	
		TOBSSHAC124C two celled proembryo suppression subtractive cDNA library Nicotiana tabacum cDNA, mRNA sequence	97	2,00E-130	99	<i>Nicotiana tabacum</i>	Έμβρυο
		THL52h-2787 cDNA library of Tamarix hispida leaves at different stress times Tamarix hispida cDNA clone 52h-5G05.abd, mRNA sequence	97	2,00E-130	99	<i>Tamarix hispida</i>	Φύλλα
		TOBSSHZyS355C Nicotiana tabacum petit havana SR1 zygote suppression subtractive cDNA library (against symmetric two-celled embryo) Nicotiana tabacum cDNA, mRNA sequence	97	3,00E-129	98	<i>Nicotiana tabacum</i>	Ζυγωτό
		365i_F07_011 ovule cDNA library of a seedless grape (Vitis vinifera var. Thomson seedless) Vitis vinifera cDNA, mRNA sequence	97	3,00E-129	98	<i>Vitis vinifera</i>	Ωθήκη
		MF1_56_F04.b1_F001 Limnanthes alba EST Library MF1 Limnanthes alba cDNA clone MF1BH_BI_BJ_BK1G_L07 5' similar to Similarity to mitochondrial genome, mRNA sequence	96	3,00E-129	99	<i>Limnanthes alba</i>	Μιτοχονδριακό γονιδίωμα
THLCK-937 cDNA library of Tamarix hispida leaves at different stress times Tamarix hispida cDNA clone ck-39C06.abd, mRNA sequence	97	3,00E-129	98	<i>Tamarix hispida</i>	Φύλλα		
OFF 24	597	UCRCS01_01bd06_b1 Washington Navel orange cold acclimated flavedo & albedo cDNA library Citrus sinensis cDNA clone UCRCS01_01bd06, mRNA sequence	97	5,00E-150	80	<i>Citrus sinensis</i>	Φλαβέντο και αλμπέντο
		CS00-C3-700-032-A05-CT.F Sweet orange fruit, development stadium (1 of 6) Citrus sinensis cDNA, mRNA sequence	99	2,00E-148	79	<i>Citrus sinensis</i>	Καρπός
		UCRPT02_49H10_g Poncirus trifoliata Roots with Iron Deficiency - UCRPT02-UCR1 Citrus trifoliata cDNA clone UCRPT02-49H10-P20-1-5.g, mRNA sequence	94	1,00E-144	80	<i>Citrus trifoliata</i>	Ρίζα
		C18021D04Rv Drought2 Citrus reshni cDNA clone C18021D04,	89	4,00E-144	81	<i>Citrus reshni</i>	Υδατικό στρες

mRNA sequence					
UCRCS09_26D11_g Ruby Orange Developing Seed cDNA Library UCRCS09 Citrus sinensis cDNA clone UCRCS09-26D11-H21-1-6.g, mRNA sequence	94	4,00E-144	80	<i>Citrus sinensis</i>	Σπόρος
CS00-C2-003-028-C02-CT.F Sweet orange bark, greenhouse plant Citrus sinensis cDNA, mRNA sequence	72	6,00E-130	84	<i>Citrus sinensis</i>	Φλοιός
CS00-C5-003-101-B05-CT.F Sweet orange flower, greenhouse plant Citrus sinensis cDNA, mRNA sequence	72	3,00E-127	83	<i>Citrus sinensis</i>	Άνθη
JGCCJG2022F02.b Jatropha curcas L. germinating seeds (mixed stages) Jatropha curcas cDNA clone JGCCJG2022F02 similar to NADH dehydrogenase, mRNA sequence	65	4,00E-113	83	<i>Jatropha curcas</i>	Σπόροι
UFL_446_92 Cotton fiber 0-10 day post anthesis Gossypium hirsutum cDNA, mRNA sequence	66	2,00E-111	83	<i>Gossypium hirsutum</i>	Ίνα
h1_F12.ab1 cotton shoot apical meristems, buds and flowers Gossypium hirsutum cDNA 3', mRNA sequence	66	6,00E-111	83	<i>Gossypium hirsutum</i>	Μείγμα οργάνων
BNLGH110684 Six-day Cotton fiber Gossypium hirsutum cDNA 5' similar to 13 kDa-B polypeptide of iron-sulfur protein fraction of NADH:ubiquinone oxidoreductase [cattle, heart, Peptide Mitochondrial Partial, 114 aa], mRNA sequence	66	2,00E-109	83	<i>Gossypium hirsutum</i>	Ίνα
C2B05068 Buds/little clusters (VvC2) Vitis vinifera cDNA clone C2B05068, mRNA sequence	66	4,00E-107	82	<i>Vitis vinifera</i>	Οφθαλμοί, καρποταξίες
S9B07402 Ripening Berries (VvS9) Vitis vinifera cDNA clone S9B07402, mRNA sequence	66	2,00E-104	81	<i>Vitis vinifera</i>	Καρποί
SCB06767 Inflorescence with GA3 (VvS12) Vitis vinifera cDNA clone SCB06767, mRNA sequence	66	2,00E-103	81	<i>Vitis vinifera</i>	Άνθη
SBB04647 Inflorescence (VvS11) Vitis vinifera cDNA clone SBB04647, mRNA sequence	66	2,00E-103	81	<i>Vitis vinifera</i>	Άνθη
COT_FD_H09 Fiber and Ovule of Xu-142 Lambda Zap Express Library Gossypium hirsutum cDNA 3' similar to (NM_124662) expressed protein; protein id: At5g52840.1, supported by cDNA: gi_15809965, supported by cDNA: gi_18958051 [Arabidopsis thaliana], mRNA sequence	68	2,00E-103	80	<i>Gossypium hirsutum</i>	Ίνα και Ωοθήκη
VVD021B12_345481 An expressed sequence tag database for abiotic stressed berries of Vitis vinifera var. Chardonnay Vitis vinifera cDNA clone VVD021B12 5, mRNA sequence	66	2,00E-103	81	<i>Vitis vinifera</i>	Αβιοτικό στρες καρπού

		PA__Ea0008M06f Almond developing seed Prunus dulcis cDNA clone PA__Ea0008M06f, mRNA sequence	57	2,00E-103	85	<i>Prunus dulcis</i>	Σπόρος
OFF 26	479	CR05-C1-100-054-E06-CT.F Mandarin leaf, greenhouse plant Citrus reticulata cDNA, mRNA sequence	54	8,00E-51	78	<i>Citrus reticulata</i>	Φύλλα
		CS00-C5-003-049-E03-CT.F Sweet orange flower, greenhouse plant Citrus sinensis cDNA, mRNA sequence	54	8,00E-51	78	<i>Citrus sinensis</i>	Άνθη
		UCRCS07_8D05_g Parent Washington Navel Orange Thrip-Challenged Flavedo cDNA Library UCRCS07 Citrus sinensis cDNA clone UCRCS07-8D05-G10-1-6.g, mRNA sequence	54	8,00E-51	78	<i>Citrus sinensis</i>	Φλαβέντο
		SBB02149 Inflorescence (VvS11) Vitis vinifera cDNA clone SBB02149, mRNA sequence	45	3,00E-49	80	<i>Vitis vinifera</i>	Άνθη
		CR05-C3-700-146-H05-CT.F Mandarin fruit, development stadium (1 of 3) Citrus reticulata cDNA, mRNA sequence	54	1,00E-48	78	<i>Citrus reticulata</i>	Καρπός
		S1G01021 Fruits and flowers treated with GA3 (VvS1) Vitis vinifera cDNA clone S1G01021, mRNA sequence	45	1,00E-48	80	<i>Vitis vinifera</i>	Άνθη και καρποί
		WIN1028.C21_O10 Muscat Hamburg post-veraison pericarp normalized (WIN10) Vitis vinifera cDNA clone WIN1028_O10 3', mRNA sequence	45	1,00E-47	80	<i>Vitis vinifera</i>	Περικάρπιο
		WIN086.C21_K12 Cab Sauv seed normalized (WIN08) Vitis vinifera cDNA clone WIN086_K12 3', mRNA sequence	45	1,00E-47	80	<i>Vitis vinifera</i>	Σπόροι
		WIN0573.C21_C16 Cab Sauv flower, leaf and root normalized (WIN05) Vitis vinifera cDNA clone WIN0573_C16 3', mRNA sequence	45	1,00E-47	80	<i>Vitis vinifera</i>	Μείγμα οργάνων
		VVB152G08_409239 An expressed sequence tag database for abiotic stressed leaves of Vitis vinifera var. Chardonnay Vitis vinifera cDNA clone VVB152G08 5, mRNA sequence	45	7,00E-45	79	<i>Vitis vinifera</i>	Αβιοτικό στρες φύλλων
		PtaJXT0018G11G1113 Poplar cDNA library from young tension xylem Populus tremula x Populus alba cDNA 5', mRNA sequence	46	3,00E-43	78	<i>Populus sp.</i>	Ξύλο
		38 cDNA library of Chinese wild Vitis amurensis cold-stressed young leaves from potted plant Vitis amurensis cDNA 5', mRNA sequence	45	4,00E-42	78	<i>Vitis amurensis</i>	Φύλλα
		UM53TB08 Populus flower cDNA library Populus trichocarpa cDNA 5 prime, mRNA sequence	46	4,00E-42	78	<i>Populus trichocarpa</i>	Φύλλα
		WIN109.C21_H22 Muscat Hamburg post-veraison pericarp normalized (WIN10) Vitis vinifera cDNA clone WIN109_H22 3', mRNA sequence	41	5,00E-41	80	<i>Vitis vinifera</i>	Περικάρπιο

		S066B07 Populus imbibed seed cDNA library Populus tremula cDNA 5 prime, mRNA sequence	41	6,00E-40	79	<i>Populus tremula</i>	Σπόροι
		DB898474 full-length enriched poplar cDNA library, mixture of leaf, bud, stem, root Populus nigra cDNA clone PnFL2-032_P16 3', mRNA sequence	44	2,00E-38	77	<i>Populus nigra</i>	Μείγμα οργάνων
		A03_69-56_01.ab1 leaf inoculated with Marssonina pathogen of Populus deltoides Populus deltoides cDNA, mRNA sequence	44	2,00E-38	77	<i>Populus deltoides</i>	Φύλλα
OFF 29	703	PvF18_E05 Pistacia male and female panicles Pistacia vera cDNA, mRNA sequence	85	0.0	98	<i>Pistacia vera</i>	Male and female panicles
		CGF1004283_A04 Developing fruit juice sac at 38 DAFB Citrus sinensis cDNA clone JSJune0003_IIF_A04 5', mRNA sequence	81	3,00E-89	73	<i>Citrus sinensis</i>	Καρποί
		UCRCS09_31G05_g Ruby Orange Developing Seed cDNA Library UCRCS09 Citrus sinensis cDNA clone UCRCS09-31G05-N10-1-5.g, mRNA sequence	73	4,00E-88	75	<i>Citrus sinensis</i>	Σπόρος
		UCRCS02_05O12_f Ruby Orange Ovary at Anthesis cDNA Library Citrus sinensis cDNA clone CS_REa05O12, mRNA sequence	73	4,00E-88	75	<i>Citrus sinensis</i>	Ωοθήκη
		CS00-C1-650-021-H10-CT.F Sweet orange leaf, young greenhouse plant Citrus sinensis cDNA, mRNA sequence	72	5,00E-87	74	<i>Citrus sinensis</i>	Φύλλα
		UCRCS02_03H09_f Ruby Orange Ovary at Anthesis cDNA Library Citrus sinensis cDNA clone CS_REa03H09, mRNA sequence	73	5,00E-87	74	<i>Citrus sinensis</i>	Ωοθήκη
		CS00-C5-003-010-H09-CT.F Sweet orange flower, greenhouse plant Citrus sinensis cDNA, mRNA sequence	72	4,00E-82	74	<i>Citrus sinensis</i>	Άνθη
		CG32-C1-003-036-H09-CT.F Mexican lime leaf, greenhouse plant Citrus aurantiifolia cDNA, mRNA sequence	68	4,00E-69	73	<i>Citrus aurantiifolia</i>	Φύλλα
		S5B01435 Fruits 7-9 mm treated with GA3 (VvS5) Vitis vinifera cDNA clone S5B01435, mRNA sequence	59	9,00E-46	71	<i>Vitis vinifera</i>	Καρπός
		SBB01347 Inflorescence (VvS11) Vitis vinifera cDNA clone SBB01347, mRNA sequence	59	4,00E-44	71	<i>Vitis vinifera</i>	Άνθη
		S4B04614 Fruits 2-3 mm (VvS4) Vitis vinifera cDNA clone S4B04614, mRNA sequence	59	4,00E-44	71	<i>Vitis vinifera</i>	Καρποί
		C3B08279 Clusters 4 cm (VvC3) Vitis vinifera cDNA clone C3B08279, mRNA sequence	59	4,00E-44	71	<i>Vitis vinifera</i>	Καρποταξίες
C2C07194 Buds/little clusters (VvC2) Vitis vinifera cDNA clone C2C07194, mRNA sequence	59	4,00E-44	71	<i>Vitis vinifera</i>	Οφθαλμοί		

OFF 30	403	CL06-C4-501-063-F08-CT.F Rangpur lime root, plant with hydric stress Citrus limonia cDNA, mRNA sequence	62	7,00E-38	81	<i>Citrus limonia</i>	Υδατικό στρες
		C16013C08SK ExocortL1 Citrus medica cDNA clone C16013C08, mRNA sequence	48	3,00E-36	78	<i>Citrus medica</i>	
		CS00-C3-701-084-G04-CT.F Sweet orange fruit, development stadium (2 of 6) Citrus sinensis cDNA, mRNA sequence	63	2,00E-33	79	<i>Citrus sinensis</i>	Καρπός
		USDA-FP/ARO_14777 Star Ruby grapefruit hot water-treated flavedo Citrus x paradisi cDNA clone Hw-18_C04 5', mRNA sequence	60	2,00E-33	80	Citrus sp.	
		UCRCA01_06L12_f Bark of Madame Vinous Sweet Orange Scion on Standard Sour Orange Rootstock, Citrus Tristeza Virus Challenged - UCRCA01 Citrus aurantium cDNA clone CA_SEa0006L12, mRNA sequence	63	2,00E-33	79	<i>Citrus aurantium</i>	Βλαστός
		UCRCS03_06P13_f Washington Navel Orange Shoot Meristem cDNA Library Citrus sinensis cDNA clone CS_PeA06P13, mRNA sequence	63	2,00E-33	79	<i>Citrus sinensis</i>	Μερίστωμα
		UCRCS01_01de04_g1 Washington Navel orange cold acclimated flavedo & albedo cDNA library Citrus sinensis cDNA clone UCRCS01_01de04, mRNA sequence	72	2,00E-33	77	<i>Citrus sinensis</i>	Καρπός
		UFPTc01_036 Cold-induced subtractive cDNA library Citrus trifoliata cDNA clone C36 similar to Dehydrin, mRNA sequence	48	5,00E-21	81	<i>Citrus trifoliata</i>	
		C31107D02EF AbioticR1 Citrus reshni cDNA clone C31107D02, mRNA sequence	36	6,00E-20	76	<i>Citrus reshni</i>	
		DB898611 full-length enriched poplar cDNA library, mixture of leaf, bud, stem, root Populus nigra cDNA clone PnFL2-033_O01 3', mRNA sequence	46	6,00E-20	72	<i>Populus nigra</i>	Μείγμα οργάνων
		C18001A09Rv Drought1 Citrus clementina cDNA clone C18001A09, mRNA sequence	60	1,00E-16	76	<i>Citrus clementina</i>	Υδατικό στρες
		I019P41.5pR Populus senescing leaves cDNA library Populus tremula cDNA clone I019P41 5', mRNA sequence	45	1,00E-15	71	<i>Populus tremula</i>	Φύλλα
		Afi04_103_B08_C014.g2 Aristolochia fimbriata flower bud library Aristolochia fimbriata cDNA clone 122I9n_D15 5', mRNA sequence	11	1,00E-09	94	<i>Aristolochia fimbriata</i>	Ανθοφόροι οφθαλμοί
		EL01N0359G07.b Endosperm_3 Zea mays cDNA, mRNA sequence	11	1,00E-09	94	<i>Zea mays</i>	Ενδοσπέρμιο
		CCUPASLFHT03h01F Pigeonpea UPAS120 heat stressed cDNA Library Cajanus cajan cDNA, mRNA sequence	9	4,00E-09	100	<i>Cajanus cajan</i>	Θερμικό στρες
		LB00009R_T3_009_F10_15JUN2004_070_ab1 CrUniGene leaf Catharanthus roseus cDNA similar to oligosaccharide:H+ symporter, mRNA sequence	10	4,00E-09	96	<i>Catharanthus roseus</i>	Φύλλα



		EST3111 Zea mays sperm cell cDNA library Zea mays cDNA clone Zmsp7904 5', mRNA sequence	14	4,00E-09	88	<i>Zea mays</i>	Σπερματικό κύτταρο
		Gm_ck16275 Soybean induced by Salicylic Acid Glycine max cDNA 3', mRNA sequence	9	4,00E-09	100	<i>Glycine max</i>	
		CAN009_2005-12-08_1/CAN009_G12_042_1 Cannabis sativa (marijuana cultivar Skunk #1) glandular trichomes isolated from female inflorescences Cannabis sativa cDNA, mRNA sequence	9	1,00E-08	98	<i>Cannabis sativa</i>	Άνθη
		PT11-C2-300-053-D03-CT.F Poncirus trifoliata bark, greenhouse plant Citrus trifoliata cDNA, mRNA sequence	9	1,00E-08	98	<i>Citrus trifoliata</i>	Φλοιός
		VBL6_55_I24_E001.g1 Normalized cDNA library from developing embryos of peanut Arachis hypogaea cDNA, mRNA sequence	9	5,00E-08	97	<i>Arachis hypogaea</i>	Έμβρυο
OFF 31	704	PvM06_E03 Pistacia male and female panicles Pistacia vera cDNA, mRNA sequence	85	4,00E-44	67	<i>Pistacia vera</i>	male and female panicles
		VBL6_48_C15_E001.g1 Normalized cDNA library from developing embryos of peanut Arachis hypogaea cDNA, mRNA sequence	11	2,00E-23	94	<i>Arachis hypogaea</i>	Έμβρυο
		0174141 Brassica napus Flower Brassica napus cDNA, mRNA sequence	11	6,00E-23	92	<i>Brassica napus</i>	Άνθη
		ICC4958_CD10_D02 ICC4958 dehydration stressed root cDNA library Cicer arietinum cDNA clone ICC4958_CD10_D02 5', mRNA sequence	10	2,00E-22	92	<i>Cicer arietinum</i>	Ρίζα
		0111925 Brassica napus Senescent leaves Brassica napus cDNA, mRNA sequence	12	2,00E-22	91	<i>Brassica napus</i>	Φύλλα
		MSAM236098_1353_0664 LCM-dissected maize shoot apical meristem cDNA Zea mays cDNA, mRNA sequence	10	2,00E-22	93	<i>Zea mays</i>	Μερίστωμα
		0141336 Brassica napus Early anther Brassica napus cDNA, mRNA sequence	9	9,00E-21	92	<i>Brassica napus</i>	Ανθήρες
		0164545 Brassica napus Flower Brassica napus cDNA, mRNA sequence	12	9,00E-21	88	<i>Brassica napus</i>	Άνθη
		0194692 Brassica napus Stem library Brassica napus cDNA, mRNA sequence	11	9,00E-21	90	<i>Brassica napus</i>	Βλαστός
		COT_EO_C07 Fiber and Ovule of Xu-142 Lambda Zap Express Library Gossypium hirsutum cDNA 3' similar to (AF044204) lipid transfer protein precursor [Gossypium hirsutum], mRNA sequence	49	9,00E-21	68	<i>Gossypium hirsutum</i>	Ωοθήκη
		CSECS006D09_PREu0032 CabSau Berry Preveraison Stage 32 (PREu0032) Vitis vinifera cDNA clone CSECS006D09 3', mRNA sequence	12	3,00E-20	89	<i>Vitis vinifera</i>	Καρπός

		davisf0009H06 <i>Fragaria vesca</i> 'Yellow Wonder' flower buds. <i>Fragaria vesca</i> subsp. <i>vesca</i> cDNA clone davisf0009H06, mRNA sequence	9	1,00E-19	90	<i>Fragaria vesca</i>	Άνθη
		PT11-C2-301-051-F09-CT.F <i>Poncirus trifoliata</i> bark, infected with <i>Phytophthora parasitica</i> <i>Citrus trifoliata</i> cDNA, mRNA sequence	12	4,00E-19	88	<i>Poncirus trifoliata</i>	Φλοιός
		153521_2261_3395 <i>Arabidopsis ovule</i> high throughput cDNA library <i>Arabidopsis thaliana</i> cDNA, mRNA sequence	10	4,00E-19	88	<i>Arabidopsis thaliana</i>	Ωοθήκη
OFF 32	309	UCRCS08_21D11_g Parent Washington Navel Orange Callus cDNA Library UCRCS08-2 <i>Citrus sinensis</i> cDNA clone UCRCS08-21D11-G21-1-4.g, mRNA sequence	89	1,00E-134	99	<i>Citrus sinensis</i>	Κάλλος
		FR636453 WZ0AFEAA <i>Fraxinus excelsior</i> cDNA clone WZ0AFEAA14YO16CM1, mRNA sequence	89	2,00E-133	99	<i>Fraxinus excelsior</i>	
		JGCCJG2041H06.b1 <i>Jatropha curcas</i> L. germinating seeds (mixed stages) <i>Jatropha curcas</i> cDNA clone JGCCJG2041H06 similar to hypothetical protein, mRNA sequence	89	2,00E-133	99	<i>Jatropha curcas</i>	Σπόροι
		FM895920 <i>Jatropha curcas</i> embryo 71-95 (DAF) <i>Jatropha curcas</i> cDNA clone rjcpga0_002927, mRNA sequence	86	1,00E-127	98	<i>Jatropha curcas</i>	Έμβρυο
		Hops-Column-30R_2007-06-15/Hops-Column-30R_G12_042_1 <i>Humulus lupulus</i> (L. cultivar Phoenix) Trichome isolated from the female flower at mid-developmental stage <i>Humulus lupulus</i> cDNA, mRNA sequence	87	5,00E-127	98	<i>Humulus lupulus</i>	Άνθη
		25_B01:A <i>Triphysaria versicolor</i> root-tip, early DMBQ-induced transcript cDNA library <i>Triphysaria versicolor</i> cDNA, mRNA sequence	84	2,00E-125	98	<i>Triphysaria versicolor</i>	Ρίζα
		FQ319231 <i>Casuarina glauca</i> nodule 3 weeks after inoculation with <i>Frankia CcI3</i> strain <i>Casuarina glauca</i> cDNA, mRNA sequence	82	3,00E-123	99	<i>Casuarina glauca</i>	Κόμβος
		EST00026 Watermelon fruit normalization and subtraction library <i>Citrullus lanatus</i> cDNA clone AL0105O14, mRNA sequence	82	3,00E-123	99	<i>Citrullus lanatus</i>	Καρπός
		NNEA0854 <i>Nelumbo nucifera</i> embryonic axis cDNA library <i>Nelumbo nucifera</i> cDNA 5', mRNA sequence	82	3,00E-123	99	<i>Nelumbo nucifera</i>	Εμβρυακός άξονας
		FS1_G08 Sugar Beet inflorescence cDNA library (subtracted) <i>Beta vulgaris</i> cDNA 5' similar to <i>Arabidopsis</i> hypothetical protein Y08501, mRNA sequence	82	3,00E-123	99	<i>Beta vulgaris</i>	Άνθη
TOBSSHZyS050C <i>Nicotiana tabacum</i> petit havana SR1 zygote suppression subtractive cDNA library (against symmetric two-celled embryo) <i>Nicotiana tabacum</i> cDNA, mRNA sequence	82	4,00E-122	98	<i>Nicotiana tabacum</i>	Ζυγωτό		

		FS999643 Common buckwheat cDNA library derived from inflorescences Fagopyrum esculentum cDNA clone Fest_F0027, mRNA sequence	82	4,00E-122	98	<i>Fagopyrum esculentum</i>	Άνθη
		nta0055 Tobacco cultivar SR1 apical cell cDNA library Nicotiana tabacum cDNA, mRNA sequence	82	4,00E-122	98	<i>Nicotiana tabacum</i>	Κορυφαίο κύτταρο
		TOBSSHAC141C two celled proembryo suppression subtractive cDNA library Nicotiana tabacum cDNA, mRNA sequence	82	4,00E-122	98	<i>Nicotiana tabacum</i>	Έμβρυο
OFF 33	666	PvM17_E07 Pistacia male and female panicles Pistacia vera cDNA, mRNA sequence	38	1,00E-126	99	<i>Pistacia vera</i>	male and female panicles
		Mdfr3002n04.y1 Mdfr Malus x domestica cDNA clone Mdfr3002n04 5' similar to TR:Q9SSU7 Q9SSU7 ENDO-1,4-BETA-GLUCANASE. ;, mRNA sequence	41	9,00E-71	82	Malus sp.	Endo-1,4-beta-glucanase
		Mdfrg3151J15_e6175.b1 Apple_EST_Mdfrg Malus x domestica cDNA 3' similar to pir S57808 cellulase (EC 3.2.1.4) precursor - tomato gb AAA80495.1  endo-1,4-beta-glucanase precursor, mRNA sequence	41	1,00E-69	82	Malus sp.	Cellulase
		UFL_683_41 Cotton fiber 0-10 day post anthesis Gossypium hirsutum cDNA, mRNA sequence	49	6,00E-67	82	<i>Gossypium hirsutum</i>	ίνα
		WIN1123.C21_N19 Muscat Hamburg pre-veraison berry normalized (WIN11) Vitis vinifera cDNA clone WIN1123_N19 3', mRNA sequence	40	6,00E-67	81	<i>Vitis vinifera</i>	Καρπός
		CSECS191A05_INF0031 CabSau Immature Inflorescence Stage 31 (INF0031) Vitis vinifera cDNA clone CSECS191A05 3', mRNA sequence	40	6,00E-67	81	<i>Vitis vinifera</i>	Άνθος
		VVI123A03_602162 CabSau Flower Stage 12 (FLOu0012) Vitis vinifera cDNA clone VVI123A03 5, mRNA sequence	40	6,00E-67	81	<i>Vitis vinifera</i>	Άνθος
		020805AVBC011896HT (AVBC) Royal Gala young shoot Malus x domestica cDNA clone AVBC011896, mRNA sequence	40	2,00E-66	81	Malus sp.	Βλαστός
		UK114TC05 Populus apical shoot cDNA library Populus tremula x Populus tremuloides cDNA 5 prime, mRNA sequence	40	7,00E-66	81	Populus sp.	Βλαστός
		030630KAWC018664HT (KAWC) Actinidia chinensis - active meristems Actinidia chinensis cDNA clone KAWCC01866, mRNA sequence	39	9,00E-65	81	<i>Actinidia chinensis</i>	Μερίστωμα
MTU5CS.P14.D02 Aspen stem cDNA Library Populus tremuloides cDNA, mRNA sequence	45	3,00E-64	97	<i>Populus tremuloides</i>	Βλαστός		
JS1BM80JG Salt stressed Fragaria vesca (strain Hawaii-4) cDNA library Fragaria vesca cDNA clone JS1BM80, mRNA sequence	40	1,00E-63	81	<i>Fragaria vesca</i>	Στρες αλατότητας		

		T078C12.5pR Populus shoot meristem cDNA library Populus tremula x Populus tremuloides cDNA clone T078C12 5', mRNA sequence	45	4,00E-63	97	Populus sp.	Μερίστωμα
		454GmaGlobSeed387212 Soybean Seeds Containing Globular-Stage Embryos Glycine max cDNA, mRNA sequence	34	2,00E-61	83	<i>Glycine max</i>	Έμβρυο
		COT_ET_D12 Fiber and Ovule of Xu-142 Lambda Zap Express Library Gossypium hirsutum cDNA 3' similar to (U20590) endo-1,4-beta-glucanase precursor [ <i>Lycopersicon esculentum</i> ], mRNA sequence	36	3,00E-58	81	<i>Gossypium hirsutum</i>	Ίνα και Ωοθήκη
		F003P95.5pR Populus flower cDNA library Populus trichocarpa cDNA clone F003P95 5', mRNA sequence	36	3,00E-58	81	<i>Populus trichocarpa</i>	Άνθος
		Gm_ck20072 Soybean induced by Salicylic Acid Glycine max cDNA 3', mRNA sequence	35	1,00E-57	82	<i>Glycine max</i>	
OFF 35	448	PvF04_E09 Pistacia male and female panicles Pistacia vera cDNA, mRNA sequence	93	0.0	99	<i>Pistacia vera</i>	Male and female panicles
		FQ339014 Alnus glutinosa nodule 3 weeks after inoculation with Frankia alni Alnus glutinosa cDNA, mRNA sequence	77	6,00E-90	81	<i>Alnus glutinosa</i>	Κάμβος
		CTOY9693.b1_I23.ab1 CTO(XYZ) dandelion Taraxacum officinale cDNA clone CTOY9693, mRNA sequence	72	6,00E-90	82	<i>Taraxacum officinale</i>	
		TKR019A06 Taraxacum kok-saghyz root cDNA library (TKR) Taraxacum kok-saghyz cDNA clone TKR019A06, mRNA sequence	72	7,00E-89	82	<i>Taraxacum kok-saghyz</i>	Ρίζα
		VRK113T7 Vitis riparia bud - VRK Vitis riparia cDNA clone VRK113 5', mRNA sequence	74	9,00E-88	82	<i>Vitis riparia</i>	Οφθαλμοί
		INFIO01_000608 Grape Inflorescence pSPORT1 Library Vitis vinifera cDNA 5', mRNA sequence	74	9,00E-88	82	<i>Vitis vinifera</i>	Άνθη
		GR-PU-000-MG-022-A09.R Young leaves infected by Puccinia psidii (EUGR-PU) Eucalyptus grandis cDNA clone GR-PU-000-MG-022-A09.R 5', mRNA sequence	77	3,00E-87	80	<i>Puccinia psidii</i>	Φύλλα
		FQ333417 Alnus glutinosa nodule 3 weeks after inoculation with Frankia alni Alnus glutinosa cDNA, mRNA sequence	77	3,00E-87	81	<i>Alnus glutinosa</i>	Κόμβος
		QSB170 nine-year-old eucalypt xylem library Eucalyptus grandis cDNA, mRNA sequence	77	3,00E-87	80	<i>Eucalyptus grandis</i>	Ξύλο
		CBPG10690.b1 CBPG Mimulus guttatus IM62 roots, seedlings, fruits, callus (L) Mimulus guttatus cDNA clone CBPG10690 5', mRNA sequence	75	1,00E-86	81	<i>Mimulus guttatus</i>	Μείγμα οργάνων

		FQ481671 Vitis vinifera cv. Pinot Noir PN177 cDNA library Vitis vinifera cDNA, mRNA sequence	74	4,00E-86	82	<i>Vitis vinifera</i>	
OFF 36	275	SSH1_127_TRA_85 Camellia assamica BWSSH1TFL cDNA library Camellia sinensis var. assamica cDNA 5', mRNA sequence	100	3,00E-136	99	<i>Camellia sinensis</i>	
		AS1-1_P12_E06 Chickpea drought stressed cDNA SSH library AS1 Cicer arietinum cDNA, mRNA sequence	99	3,00E-135	100	<i>Cicer arietinum</i>	Υδατικό στρες
		PA_C7_TRA_5695 Camellia assamica PA1 cDNA library Camellia sinensis var. assamica cDNA 5', mRNA sequence	100	1,00E-134	100	<i>Camellia sinensis</i>	
		CCASHAFL07d09F Pigeonpea Asha flood stressed cDNA Library Cajanus cajan cDNA, mRNA sequence	100	1,00E-134	99	<i>Cajanus cajan</i>	Υδατικό στρες
		charng00111 Tomato root subtractive cDNA library for heat-shock down-regulated genes Solanum lycopersicum cDNA clone LEHRD02C01, mRNA sequence	100	1,00E-134	100	<i>Solanum lycopersicum</i>	Γονίδια θερμικού στρες
		SSH3_384_TRA_1143 Camellia assamica WSSH3TFL cDNA library Camellia sinensis var. assamica cDNA 5', mRNA sequence	99	1,00E-133	100	<i>Camellia sinensis</i>	
		CS-DRT-64 cDNA AFLP of drought stressed tea leaves at BW and WD. Camellia sinensis cDNA, mRNA sequence	99	1,00E-133	100	<i>Camellia sinensis</i>	Υδατικό στρες
		3C6A11_TRA_1281 Camellia assamica WTV23CTV23E cDNA library Camellia sinensis var. assamica cDNA, mRNA sequence	99	1,00E-133	100	<i>Camellia sinensis</i>	
OFF 42	1031	TPD_SSH_BC180 TPD responsive transcripts of Hevea brasiliensis (TPD affected bark) Hevea brasiliensis cDNA similar to hypothetical protein, mRNA sequence	47	0.0	98	<i>Hevea brasiliensis</i>	Φλοιός
		FQ324254 Casuarina glauca root 7 days after inoculation with Frankia CcI3 strain Casuarina glauca cDNA, mRNA sequence	50	0.0	100	<i>Casuarina glauca</i>	Ρίζα
		AJ774535 Populus euphratica shoot 3-6 months Populus euphratica cDNA clone P0000300021E06F1, mRNA sequence	45	0.0	99	<i>Populus euphratica</i>	Βλαστός
		AJ768611 Populus euphratica leaf adult Populus euphratica cDNA clone P0000100019G09F1, mRNA sequence	45	0.0	99	<i>Populus euphratica</i>	Φύλλα
		PT11-C9-005-044-F05-CT.F Poncirus trifoliata seed, field plant Citrus trifoliata cDNA, mRNA sequence	45	0.0	99	<i>Citrus trifoliata</i>	Σπόρος
		CS00-C3-703-048-B04-CT.F Sweet orange fruit, development stadium (4 of 6) Citrus sinensis cDNA, mRNA sequence	45	0.0	99	<i>Citrus sinensis</i>	Καρπός
		CSAA-PNP1239O10 Developing fruit albedo at 80 DAFB in pTriplEx2 vector Citrus sinensis cDNA clone CSAA-PNP1239O10 5', mRNA sequence	45	0.0	99	<i>Citrus sinensis</i>	Αλμπέντο

OFF 45	571	CS00-C3-702-077-E09-CT.F Sweet orange fruit, development stadium (3 of 6) Citrus sinensis cDNA, mRNA sequence	100	0.0	92	<i>Citrus sinensis</i>	Καρπός
		CS00-C1-102-060-D10-CT.F Sweet orange leaf, infected with Xylella fastidiosa (stage 2 of 2) Citrus sinensis cDNA, mRNA sequence	100	0.0	92	<i>Citrus sinensis</i>	Φύλλα
		CS00-C1-102-043-C08-CT.F Sweet orange leaf, infected with Xylella fastidiosa (stage 2 of 2) Citrus sinensis cDNA, mRNA sequence	100	0.0	91	<i>Citrus sinensis</i>	Φύλλα
		UCRPT01_0014G08_f Poncirus trifoliata CTV-challenged cDNA library - AGI2 Citrus trifoliata cDNA clone PT_6Ea0014G08, mRNA sequence	100	0.0	1	<i>Citrus trifoliata</i>	
		C31006F11EF AbioticL1 Citrus clementina cDNA clone C31006F11, mRNA sequence	98	0.0	92	<i>Citrus clementina</i>	
		CR05-C1-100-053-F04-CT.F Mandarin leaf, greenhouse plant Citrus reticulata cDNA, mRNA sequence	100	0.0	90	<i>Citrus reticulata</i>	Φύλλα
		AJ773088 Populus euphratica leaf 3-6 months Populus euphratica cDNA clone P0000200004F11F1, mRNA sequence	100	0.0	89	<i>Populus euphratica</i>	Φύλλα
		FP029742 LG0AAA Quercus robur cDNA clone LG0AAA15YN04RM1 similar to ALFC2_ARATH Probable fructose-bisphosphate aldolase 2, chloroplast precursor. - Arabidopsis thaliana, mRNA sequence	99	0.0	89	<i>Arabidopsis thaliana</i>	fructose-bisphosphate aldolase 2, chloroplast precursor
OFF 46	360	Z_B-2_H01_001 LIBEST_ALB Mangifera indica cDNA, mRNA sequence	99	5,00E-153	94	<i>Mangifera indica</i>	
		CJ769105 Ipomoea nil shoot 8-days old seedling Ipomoea nil cDNA clone jmsf8c02 3', mRNA sequence	87	2,00E-107	88	<i>Ipomoea nil</i>	Σπορόφυτα
		BJ576011 Ipomoea nil mixture of flower and flower bud Ipomoea nil cDNA clone jm31m04 3', mRNA sequence	87	2,00E-107	88	<i>Ipomoea nil</i>	Άνθη και ανθοφόροι οφθαλμοί
		PP_YEb0035E06 Peach developing fruit mesocarp Stage S4 Prunus persica cDNA clone PP_YEb0035E06, mRNA sequence	95	5,00E-102	84	<i>Prunus persica</i>	Καρπός
		CS00-C2-003-107-A04-CT.F Sweet orange bark, greenhouse plant Citrus sinensis cDNA, mRNA sequence	84	7,00E-101	87	<i>Citrus sinensis</i>	Φλοιός
		CS00-C3-700-002-G11-CT.F Sweet orange fruit, development stadium (1 of 6) Citrus sinensis cDNA, mRNA sequence	84	7,00E-101	87	<i>Citrus sinensis</i>	Καρπός
		USDA-FP/ARO_12045 Star Ruby grapefruit temperature-conditioned flavedo cDNA Citrus x paradisi cDNA clone Cond-09_G04 5', mRNA sequence	84	7,00E-101	87	<i>Citrus sp.</i>	Καρπός
		UCRCR01_01I18_f Clementine Mandarin Albedo at Rind Separation cDNA Library Citrus reticulata cDNA clone CR_CeA01I18, mRNA sequence	84	7,00E-101	87	<i>Citrus reticulata</i>	Καρπός

		PU4_plate8_I03 PU4 Prunus persica cDNA similar to similar to (AL163814) NADH dehydrogenase (ubiquinone) [Arabidopsis thaliana], mRNA sequence	95	2,00E-100	84	<i>Arabidopsis thaliana</i>	
		GR-XY-006-RS-073-F01.R Xylem (EUGR-XY) Eucalyptus grandis cDNA clone GR-XY-006-RS-073-F01.R 5', mRNA sequence	88	8,00E-100	86	<i>Eucalyptus grandis</i>	Ξύλο
		010411AAOA009024HT (AAOA) Royal Gala phloem Malus x domestica cDNA clone AAOA009024, mRNA sequence	84	8,00E-100	87	Malus sp.	Ηθμός
		020806AAFA009537HT (AAFA) Royal Gala apple skin peel, tree-ripened fruit 150 DAFB Malus x domestica cDNA clone AAFA009537, mRNA sequence	85	3,00E-99	87	Malus sp.	Καρπός
OFF 47	1078	CU587421 OVULEI_KZ0AAB Theobroma cacao cDNA clone KZ0AAB5YP20FM1, mRNA sequence	66	1,00E-123	74	<i>Theobroma cacao</i>	
		UCRCS08_13G02_g Parent Washington Navel Orange Callus cDNA Library UCRCS08-2 Citrus sinensis cDNA clone UCRCS08-13G02-M3-1-4.g, mRNA sequence	61	4,00E-109	72	<i>Citrus sinensis</i>	Κάλλος
		UFL_137_50 Cotton fiber 0-10 day post anthesis Gossypium hirsutum cDNA, mRNA sequence	64	7,00E-94	72	<i>Gossypium hirsutum</i>	ίνα
		ERB01_15_01_P06_H12_041 Ribes nigrum Ben Hope pooled bud (SCRI_Rn_bud_cDNA) Ribes nigrum cDNA, mRNA sequence	35	6,00E-57	73	<i>Ribes nigrum</i>	Οφθαλμός
		ocpsga0_0500_F04.ab1 Soybean immature seed full-length-enriched cDNA library Glycine max cDNA, mRNA sequence	28	3,00E-54	76	<i>Glycine max</i>	Σπόρος
		rayctn0_0085_G12.ab1 cotton shoot apical meristems, buds and flowers Gossypium hirsutum cDNA 3', mRNA sequence	38	8,00E-24	67	<i>Gossypium hirsutum</i>	Μείγμα οργάνων
		THL52h-620 cDNA library of Tamarix hispida leaves at different stress times Tamarix hispida cDNA clone 52h-31A06.abd, mRNA sequence	19	2,00E-18	72	<i>Tamarix hispida</i>	Φύλλα
		Mdrta1016M22.g1 Apple_EST_Mdrta Malus x domestica cDNA similar to dbj BAC10768.1  putative Regulatory protein NPR1 (Nonexpresser of PR genes 1) [Oryza sativa (japonica cultivar-group)], mRNA sequence	2	0.48	96	Malus sp.	Regulatory protein NPR1

**Πίνακας 9.** Σύγκριση των αλληλουχιών που εκφράζονται στους οφθαλμούς των μη-καρποφορούντων βραχιόνων (OFF) με αλληλουχίες κατατεθειμένες στις διεθνείς βάσεις δεδομένων των φυτών για τα νουκλεοτίδια (BLAST-n).

Όνομα αποικίας	Μήκος αλληλουχίας (bp)	Ομόλογες αλληλουχίες από τη βάση δεδομένων (NCBI)	Ποσοστό "κάλυψης" (coverage) ομόλογης αλληλουχίας (%)	E-value	Ομολογία (identity) (%)	Οργανισμός	Χαρακτηρισμός γονιδίου ή οργάνου όπου δρα η ομόλογη γενετική πληροφορία
OFF 7	522	Acer maximowiczianum type III polyketide synthase mRNA, complete cds	97	5,00E-157	84	<i>Acer maximowiczianum</i>	polyketide synthase
		Fagus sylvatica putative chalcone synthase mRNA, partial cds	92	2,00E-148	84	<i>Fagus sylvatica</i>	chalcone synthase
OFF 8	145	Fragaria vesca subsp. vesca microsatellite DNA, clone fvp2b10	96	5,00E-16	100	<i>Fragaria vesca</i>	microsatellite DNA
		Glycine max mRNA for asparagine synthetase, type III (sas3 gene)	97	2,00E-09	96	<i>Glycine max</i>	asparagine synthetase
		Solanum lycopersicum TCP transcription factor 20 (TCP20), mRNA complete cds	97	7,00E-08	93	<i>Solanum lycopersicum</i>	transcription factor 20
		Saccharum arundinaceum clone Ea17-060 putative polyprotein-like mRNA, partial sequence	91	4,00E-05	80	<i>Saccharum arundinaceum</i>	polyprotein-like
		Fagus sylvatica mRNA for protein tyrosine phosphatase (ptp1 gene)	97	1,00E-04	100	<i>Fagus sylvatica</i>	tyrosine phosphatase
		Medicago sativa subsp. falcata mRNA for Mob1-like protein (mob1-B gene)	95	1,00E-04	100	<i>Medicago sativa</i>	Mob1-like protein
		Triticum aestivum NADP-dependent malic enzyme mRNA, complete cds	95	5,00E-04	100	<i>Triticum aestivum</i>	NADP-dependent malic enzyme
		Hevea brasiliensis HbDXS2 mRNA for 1-deoxy-D-xylulose 5-phosphate synthase, complete cds, note: HbDXS2_No.1902	83	0.006	100	<i>Hevea brasiliensis</i>	1-deoxy-D-xylulose 5-phosphate synthase
		Arnebia euchroma cinnamic acid 4-hydroxylase mRNA, complete cds	85	0.006	100	<i>Arnebia euchroma</i>	cinnamic acid 4-hydroxylase
		Chlamydomonas reinhardtii EZY11 mRNA for UDP-glucose protein: protein trans glycosylase, complete cds	83	0.006	100	<i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	UDP-glucose protein
		Humulus lupulus DFR mRNA for dihydroflavonol 4-reductase, complete cds	95	0.006	100	<i>Humulus lupulus</i>	dihydroflavonol 4-reductase
		Malus x domestica MdADC mRNA for arginine decarboxylase, complete cds	85	0.006	100	Malus sp.	arginine decarboxylase
		Quercus petraea mRNA for calmodulin (caM-1 gene)	85	0.006	100	<i>Quercus petraea</i>	calmodulin
Saururus chinensis mRNA for putative MADS-box protein (mads669 gene)	85	0.006	100	<i>Saururus chinensis</i>	MADS-box protein		
Panax notoginseng clone 01023-13958 cytochrome P450 mRNA, complete cds	79	0.24	100	<i>Panax notoginseng</i>	cytochrome P450		



OFF 9	92	Fragaria vesca subsp. vesca microsatellite DNA, clone fvp2b10	76	4,00E-14	98	<i>Fragaria vesca</i>	Microsatellite DNA
		Glycine max mRNA for asparagine synthetase, type III (sas3 gene)	75	4,00E-08	89	<i>Glycine max</i>	Asparagine synthetase
		Solanum lycopersicum TCP transcription factor 20 (TCP20), mRNA complete cds	75	5,00E-07	96	<i>Solanum lycopersicum</i>	transcription factor
		Saccharum arundinaceum clone Ea17-060 putative polyprotein-like mRNA, partial sequence	67	7,00E-05	92	<i>Solanum arundinaceum</i>	polyprotein
		Triticum aestivum NADP-dependent malic enzyme mRNA, complete cds	75	3,00E-04	100	<i>Triticum aestivum</i>	NADP-dependent malic enzyme
		Fagus sylvatica mRNA for protein tyrosine phosphatase (ptp1 gene)	75	3,00E-04	93	<i>Fagus sylvatica</i>	tyrosine phosphatase
		Humulus lupulus DFR mRNA for dihydroflavonol 4-reductase, complete cds	76	0.003	96	<i>Humulus lupulus</i>	dihydroflavonol 4-reductase
		Gypsophila paniculata GpSOC1 mRNA for suppressor of overexpression of constans 1, complete cds	75	0.011	96	<i>Gypsophila paniculata</i>	suppressor of overexpression of constans 1
		Malus x domestica MdADC mRNA for arginine decarboxylase, complete cds	75	0.011	100	Malus sp.	arginine decarboxylase
		Zinnia elegans complete mRNA for putative peroxidase (pod gene), clone ZeHC4	75	0.011	96	<i>Zinnia elegans</i>	peroxidase
		Pisum sativum chloroplast mRNA for Tic62 protein	75	0.011	96	<i>Pisum sativum</i>	Tic62 protein
		Polygonum sibiricum glutamine synthetase mRNA, complete cds	73	0.038	96	<i>Polygonum sibiricum</i>	glutamine synthetase
OFF 10	353	Citrus aurantium 26S ribosomal RNA gene, complete sequence	98	9,00E-164	97	<i>Citrus aurantium</i>	26S ribosomal RNA gene
OFF 13	287	Helianthus annuus hydroxyproline-rich protein gene, complete cds	52	4,00E-15	86	<i>Helianthus annuus</i>	hydroxyproline-rich protein
		Lithospermum erythrorhizon extensin mRNA, complete cds	77	6,00E-13	93	<i>Lithospermum erythrorhizon</i>	extensin
		Medicago truncatula Serine/threonine protein kinase BRI1-like protein (MTR_3g100950) mRNA, complete cds	47	9,00E-05	73	<i>Medicago truncatula</i>	protein kinase BRI1
		Arabidopsis thaliana chromosome 4, complete sequence	20	0.004	89	<i>Arabidopsis thaliana</i>	Χρωματόσωμα 4
OFF 17	857	Pentamerista neotropica 26S ribosomal RNA gene, partial sequence	64	0.0	99	<i>Pentamerista neotropica</i>	26S ribosomal
OFF 21	278	Beta macrocarpa mitochondrion, complete genome	96	1,00E-123	97	<i>Beta macrocarpa</i>	Μιτοχόνδριο
		Beta vulgaris subsp. maritima genotype male-sterile G mitochondrion, partial genome	96	1,00E-123	97	<i>Beta vulgaris</i>	male-sterile G mitochondrion
		Beta vulgaris subsp. maritima genotype male-fertile A mitochondrion, complete genome	96	1,00E-123	97	<i>Beta vulgaris</i>	male-fertile A mitochondrion
		Beta vulgaris subsp. maritima genotype male-fertile B mitochondrion, complete genome	96	1,00E-123	97	<i>Beta vulgaris</i>	male-fertile B mitochondrion
		Populus EST from severe drought-stressed leaves	96	1,00E-123	97	Populus sp.	Φύλλα

		Coffea arabica 26S ribosomal RNA gene, partial sequence; mitochondrial	92	1,00E-122	98	<i>Coffea arabica</i>	26S ribosomal RNA
OFF 24	597	Ricinus communis NADH dehydrogenase, putative, mRNA	65	2,00E-99	81	<i>Ricinus communis</i>	NADH dehydrogenase
		Oryza sativa Japonica Group Os03g0313000 (Os03g0313000) mRNA, complete cds	58	3,00E-71	78	<i>Oryza sativa</i>	
		Arabidopsis thaliana chromosome 5, complete sequence	54	6,00E-36	87	<i>Arabidopsis thaliana</i>	Χρωματόσωμα 5
OFF 26	479	Populus EST from mild drought-stressed leaves	44	5,00E-36	77	<i>Populus</i> sp.	Φύλλα
		Ricinus communis conserved hypothetical protein, mRNA	45	2,00E-34	77	<i>Ricinus communis</i>	conserved hypothetical protein
		Solanum lycopersicum cDNA, clone: LEFL1080DB04, HTC in leaf	46	3,00E-26	73	<i>Solanum lycopersicum</i>	Φύλλα
		Allium bourgeauii subsp. bourgeauii voucher BF-ALL-021 tRNA-Asp (trnD) gene, partial sequence; tRNA-Tyr (trnY) and tRNA-Glu (trnE) genes, complete sequence; and tRNA-Thr (trnT) gene, partial sequence; chloroplast	16	2,00E-08	81	<i>Allium bourgeauii</i>	and tRNA-Glu (trnE) genes,
		Milula spicata chloroplast tRNA-Asn (partial), tRNA-Tyr, tRNA-Glu and tRNA-Thr (partial) genes	14	1,00E-04	79	<i>Milula spicata</i>	Χλωροπλαστης
		Arabidopsis thaliana chromosome 3, complete sequence	11	0.002	80	<i>Arabidopsis thaliana</i>	Χρωματόσωμα 3
		Syzygium cumini chloroplast, complete genome	8	0.002	88	<i>Syzygium cumini</i>	Χλωροπλάστης
OFF 29	703	Solanum lycopersicum cDNA, clone: LEFL1096CG11, HTC in leaf	29	7,00E-11	77	<i>Solanum lycopersicum</i>	HTC
		Arabidopsis thaliana Pollen Ole e 1 allergen and extensin family protein (AT2G27385) mRNA, complete cds	13	2,00E-10	77	<i>Arabidopsis thaliana</i>	extensin family protein
		Arabidopsis thaliana chromosome 2, complete sequence	22	2,00E-10	96	<i>Arabidopsis thaliana</i>	Χρωματόσωμα 2
		Thellungiella halophila clone ThBAC2 hypothetical protein genes, complete cds; transposon En/Spm, complete sequence; transposon Gypsy, complete sequence; and transposon AC-like element, complete sequence	7	2,00E-06	85	<i>Thellungiella halophila</i>	transposon En/Spm
		Cucumis sp. IT-2010c tRNA-Leu (trnL) gene, partial sequence; trnL-trnF intergenic spacer, complete sequence; and tRNA-Phe (trnF) gene, partial sequence; chloroplast	10	5,00E-06	77	<i>Cucumis</i> sp.	trnL-trnF intergenic spacer
		Musa acuminata 1-aminocyclopropane-1-carboxylate oxidase mRNA, complete cds	10	6,00E-05	73	<i>Musa acuminata</i>	1-aminocyclopropane-1-carboxylate oxidase
		Camellia sinensis cultivar UPASI-10 anthocyanidin reductase (ANR) mRNA, complete cds	8	2,00E-04	82	<i>Camellia sinensis</i>	anthocyanidin reductase
		Pisum sativum PsIPT1 mRNA for adenylate isopentenyltransferase, complete cds	6	2,00E-04	87	<i>Pisum sativum</i>	Adenylate isopentenyltransferase

		Oryza sativa Japonica Group DROOPING LEAF mRNA for DL protein, complete cds	7	2,00E-04	78	<i>Oryza sativa</i>	Drooping leaf protein
		Populus tremuloides sinapyl alcohol dehydrogenase mRNA, complete cds	10	8,00E-04	75	<i>Populus tremuloides</i>	sinapyl alcohol dehydrogenase
		Solanum chacoense self-incompatibility ribonuclease (S) gene, S-12 allele, complete cds	8	8,00E-04	81	<i>Solanum chacoense</i>	Ribonuclease (S) gene
OFF 30	403	Populus trichocarpa predicted protein, mRNA	46	2,00E-20	72	<i>Populus trichocarpa</i>	
		Populus EST from severe drought-stressed leaves	9	6,00E-09	98	Populus sp.	Φύλλα
		Ricinus communis Chaperone protein dnaJ 11, chloroplast precursor, putative, mRNA	46	2,00E-08	67	<i>Ricinus communis</i>	Chaperone protein dnaJ
		Flaveria brownii carbonic anhydrase 3 mRNA, complete cds	11	8,00E-07	88	<i>Flaveria brownii</i>	carbonic anhydrase 3
		Bruguiera gymnorhiza Fe-superoxide dismutase mRNA, complete cds	9	8,00E-07	95	<i>Bruguiera gymnorhiza</i>	Fe-superoxide dismutase
		Solanum tuberosum clone 16 tuber-specific and sucrose-responsive element binding factor (TSF) mRNA, partial cds	9	8,00E-07	95	<i>Solanum tuberosum</i>	tuber-specific and sucrose-responsive element binding factor
		A.thaliana mRNA for CDPK-related protein kinase	15	8,00E-07	82	<i>Arabidopsis thaliana</i>	related protein kinase
		Nicotiana tabacum clone TOB068F10 stigma/style cell cycle inhibitor 1 (SCI1) mRNA, partial cds	8	3,00E-06	97	<i>Nicotiana tabacum</i>	cell cycle inhibitor 1
		Zea mays clone 335743 ATP synthase gamma chain mRNA, complete cds	11	3,00E-06	87	<i>Zea mays</i>	synthase gamma chain
		Zea mays beta-catenin-like protein 1 (LOC100281557), mRNA complete cds	10	3,00E-06	91	<i>Zea mays</i>	beta-catenin-like protein
		Zea mays calmodulin (LOC100280614), mRNA complete cds	11	3,00E-06	87	<i>Zea mays</i>	calmodulin
OFF 31	704	Arabidopsis thaliana putative RNA binding protein (At1g60650) mRNA, partial cds	9	2,00E-11	87	<i>Arabidopsis thaliana</i>	RNA binding protein
		P.amygdalus mRNA for lipid transfer protein III	23	2,00E-10	71	<i>Prunus amygdalus</i>	lipid transfer protein III
		Populus EST from mild drought-stressed leaves	7	8,00E-10	89	Populus sp.	Φύλλα
		Prunus dulcis x Prunus persica putative allergen Pru p 3.02 (Pru p 3.02) gene, Pru p 3.02-peach allele, complete cds	21	1,00E-07	70	Prunus sp.	allergen Pru
		Prunus cerasus truncated S haplotype-specific F-box protein 1' (SFB1') gene, complete cds	11	1,00E-07	76	<i>Prunus cerasus</i>	S haplotype-specific F-box protein 1
		Arabidopsis thaliana BR6ox2 mRNA for brassinosteroid-6-oxidase, complete cds	6	5,00E-06	87	<i>Arabidopsis thaliana</i>	brassinosteroid-6-oxidase
		Zea mays subsp. parviglumis isolate p13 phospholipid transfer protein 1 (plt1) gene, complete cds	23	5,00E-06	69	<i>Zea mays</i>	phospholipid transfer protein 1

		Elaeis guineensis clone Eg-C6-192 putative glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PDH) mRNA, partial cds	6	2,00E-05	86	<i>Elaeis guineensis</i>	glucose-6-phosphate dehydrogenase
		Euphorbia esula polyubiquitin mRNA, partial cds	5	2,00E-05	92	<i>Euphorbia esula</i>	polyubiquitin
		Cercidiphyllum japonicum haplotype NE21 tRNA-Ser (trnS) gene, partial sequence; trnS-psbZ intergenic spacer, complete sequence; PsbZ (psbZ) gene, complete cds; psbZ-trnG intergenic spacer, tRNA-Gly (trnG) gene, and trnG-trnfM intergenic spacer, complete sequence; and tRNA-Met (trnfM) gene, partial sequence; chloroplast	12	6,00E-05	75	<i>Cercidiphyllum japonicum</i>	tRNA-Ser (trnS) gene
OFF 32	309	Ricinus communis mitochondrion, complete genome	89	3,00E-131	100	<i>Ricinus communis</i>	Μιτοχόνδριο
		Beta vulgaris subsp. maritima genotype male-sterile G mitochondrion, partial genome	82	1,00E-123	99	<i>Beta vulgaris</i>	male-sterile G mitochondrion
		Beta vulgaris subsp. maritima genotype male-fertile A mitochondrion, complete genome	82	1,00E-123	99	<i>Beta vulgaris</i>	male-fertile A mitochondrion
		Beta vulgaris subsp. maritima genotype male-fertile B mitochondrion, complete genome	82	1,00E-123	99	<i>Beta vulgaris</i>	male-fertile B mitochondrion
		Coffea arabica 26S ribosomal RNA gene, partial sequence; mitochondrial	82	1,00E-123	99	<i>Coffea arabica</i>	26S ribosomal RNA
		Vitis vinifera strain PN40024 mitochondrion, partial genome	82	1,00E-122	98	<i>Vitis vinifera</i>	Μιτοχόνδριο
		Populus EST from severe drought-stressed opposite wood	83	5,00E-116	97	<i>Populus</i> sp.	Ξύλο
		Populus EST from severe drought-stressed leaves	81	6,00E-115	97	<i>Populus</i> sp.	Φύλλα
OFF 33	666	Ricinus communis endo-1,4-beta-glucanase, putative, mRNA	40	2,00E-73	83	<i>Ricinus communis</i>	endo-1,4-beta-glucanase
		PREDICTED: Vitis vinifera cellulase CEL1-like (LOC100232904), mRNA	40	2,00E-67	81	<i>Vitis vinifera</i>	cellulase
		PREDICTED: Brachypodium distachyon E3 ubiquitin-protein ligase RGLG2-like (LOC100830193), mRNA	3	4.7	100	<i>Brachypodium distachyon</i>	ubiquitin-protein ligase RGLG2
		Silene noctiflora chromosome 38 mitochondrion, complete sequence	3	4.7	100	<i>Silene noctiflora</i>	Χρωματόσωμα 38
		Zinnia elegans complete mRNA for putative peroxidase (pod gene), clone ZeHC4	5	4.7	89	<i>Zinnia elegans</i>	peroxidase
OFF 35	448	Vitis vinifera putative aquaporin (PIP2;1) mRNA, complete cds	74	3,00E-88	82	<i>Vitis vinifera</i>	aquaporin
		Juglans regia plasma intrinsic protein 2;3 mRNA, complete cds	74	3,00E-82	81	<i>Juglans regia</i>	plasma intrinsic protein
		Glycine max prolactin-induced protein (PIP), mRNA >gb BT095809.1  Soybean clone JCVI-FLGm-19N2 unknown mRNA	75	8,00E-65	77	<i>Glycine max</i>	prolactin-induced protein
		Glycine max Pip1 protein (Pip1), mRNA >gb U27347.1 GMU27347 Glycine max putative water channel protein (Pip1) mRNA, complete cds	72	4,00E-62	76	<i>Glycine max</i>	putative water channel protein
OFF 36	275	Fragaria vesca subsp. vesca microsatellite DNA, clone fvp2b10	99	1,00E-15	100	<i>Fragaria vesca</i>	microsatellite DNA

		Glycine max mRNA for asparagine synthetase, type III (sas3 gene)	99	1,00E-08	87	<i>Glycine max</i>	asparagine synthetase
		Solanum lycopersicum TCP transcription factor 20 (TCP20), mRNA complete cds	97	2,00E-07	85	<i>Solanum lycopersicum</i>	transcription factor 20
		Fagus sylvatica mRNA for protein tyrosine phosphatase (ptp1 gene)	99	3,00E-04	100	<i>Fagus sylvatica</i>	tyrosine phosphatase
		Triticum aestivum NADP-dependent malic enzyme mRNA, complete cds	99	0.001	100	<i>Triticum aestivum</i>	NADP-dependent malic
		Chlamydomonas reinhardtii EZY11 mRNA for UDP-glucose protein: protein trans glycosylase, complete cds	92	0.042	100	<i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	protein trans glycosylase
		Sesbania rostrata SrGLU5 mRNA for beta-1,3-glucanase, complete cds	92	0.042	100	<i>Sesbania rostrata</i>	beta-1,3-glucanase
		Pisum sativum MET mRNA for type 2 metallothionein, complete cds	92	0.042	100	<i>Pisum sativum</i>	metallothionein
		Musa acuminata mRNA for 1-aminocyclopropane-1-carboxylate synthase (acs gene)	92	0.042	100	<i>Musa acuminata</i>	1-aminocyclopropane-1-carboxylate synthase
		Papaver rhoeas mRNA for acetolactate synthase (als gene), herbicide sensitive biotype 98-07	92	0.042	100	<i>Papaver rhoeas</i>	acetolactate synthase
		Zinnia elegans complete mRNA for putative peroxidase (pod gene), clone ZeHC4	92	0.042	100	<i>Zinnia elegans</i>	peroxidase
		Chrysanthemum x morifolium IPI mRNA for isopentenyl pyrophosphate isomerase, complete cds	85	0.51	96	Chrysanthemum sp.	isopentenyl pyrophosphate isomerase
OFF 42	1031	Schinus molle 18S ribosomal RNA gene, complete sequence	45	0.0	99	<i>Schinus molle</i>	18S ribosomal
OFF 45	571	Hevea brasiliensis latex plastidic aldolase-like protein mRNA, complete cds	100	0.0	88	<i>Hevea brasiliensis</i>	plastidic aldolase-like protein
		Ricinus communis fructose-bisphosphate aldolase, putative, mRNA	100	0.0	88	<i>Ricinus communis</i>	fructose-bisphosphate aldolase
		Arabidopsis thaliana Full-length cDNA Complete sequence from clone GSLTPGH4ZH02 of Hormone Treated Callus of strain col-0 of Arabidopsis thaliana (thale cress)	99	5,00E-132	79	<i>Arabidopsis thaliana</i>	Κάλλος
		Arabidopsis thaliana Full-length cDNA Complete sequence from clone GSLTFB70ZH08 of Flowers and buds of strain col-0 of Arabidopsis thaliana (thale cress)	99	2,00E-130	78	<i>Arabidopsis thaliana</i>	Άνθη και οφθαλμοί
OFF 46	360	Lupinus luteus NADH-ubiquinone oxidoreductase subunit PSST mRNA, partial cds	84	5,00E-85	83	<i>Lupinus luteus</i>	NADH-ubiquinone oxidoreductase subunit
		Arabidopsis thaliana Full-length cDNA Complete sequence from clone GSLTPGH90ZB09 of Hormone Treated Callus of strain col-0 of Arabidopsis thaliana (thale cress)	82	8,00E-76	82	<i>Arabidopsis thaliana</i>	Κάλλος
		Arabidopsis thaliana Full-length cDNA Complete sequence from clone GSLTLS85ZF10 of Adult vegetative tissue of strain col-0 of Arabidopsis thaliana (thale cress)	82	8,00E-76	82	<i>Arabidopsis thaliana</i>	Βλαστικός Ιστός
		Arabidopsis thaliana chromosome 5, complete sequence	82	4,00E-54	83	<i>Arabidopsis thaliana</i>	Χρωματόσωμα 5

		Micromonas pusilla CCMP1545 mitochondrion, partial genome	82	3,00E-49	75	<i>Micromonas pusilla</i>	Μιτοχόνδριο
		Chlorokybus atmophyticus chloroplast, complete genome	26	3,00E-06	75	<i>Chlorokybus atmophyticus</i>	Χλωροπλάστης
OFF 47	1078	Arabidopsis thaliana chromosome 3, complete sequence	11	0.092	100	<i>Arabidopsis thaliana</i>	Χρωματόσωμα 3
		Arabidopsis thaliana chromosome 1, complete sequence	8	0.32	100	<i>Arabidopsis thaliana</i>	Χρωματόσωμα 1

**Πίνακας 10.** Σύγκριση των αλληλουχιών που εκφράζονται στους οφθαλμούς των καρποφορούντων βραχιόνων (OFF) με αλληλουχίες κατατεθειμένες στις διεθνείς βάσεις δεδομένων των φυτών για τις πρωτεΐνες (BLAST-x)

Όνομα αποικίας	Μήκος αλληλουχίας (bp)	Ομόλογες αλληλουχίες από τη βάση δεδομένων (NCBI)	Ποσοστό "κάλυψης" (coverage) ομόλογης αλληλουχίας (%)	E-value	Ομολογία (identity) (%)	Οργανισμός	Χαρακτηρισμός γονιδίου ή οργάνου όπου δρα η ομόλογη γενετική πληροφορία
OFF 7	522	chalcone synthase [ <i>Populus trichocarpa</i> ] >gb EEF06787.1  chalcone synthase [ <i>Populus trichocarpa</i> ]	98	2E-112	92	<i>Populus trichocarpa</i>	chalcone synthase
		type III polyketide synthase [ <i>Acer maximowiczianum</i> ]	98	7,00E-113	92	<i>Acer maximowiczianum</i>	type III polyketide synthase
		root-specific chalcone synthase [ <i>Senna alata</i> ]	98	7,00E-111	92	<i>Senna alata</i>	chalcone synthase
OFF 9	92	No significant similarity found					
OFF 8	145	Os08g0499400 [ <i>Oryza sativa Japonica Group</i> ] >dbj BAD08803.1  hypothetical protein [ <i>Oryza sativa Japonica Group</i> ] >gb EAZ07499.1  hypothetical protein OsI_29757 [ <i>Oryza sativa Indica Group</i> ] >gb EAZ43222.1  hypothetical protein OsJ_27821 [ <i>Oryza sativa Japonica Group</i> ] >dbj BAH00966.1  unnamed protein product [ <i>Oryza sativa Japonica Group</i> ] >dbj BAH94369.1  Os08g0499400 [ <i>Oryza sativa Japonica Group</i> ]	75	1,00E-06	43	<i>Oryza sativa</i>	
		hypothetical protein SORBIDRAFT_03g031775 [ <i>Sorghum bicolor</i> ]	74	2,00E-06	39	<i>Sorghum bicolor</i>	
OFF 10	353	Cytochrome P450 likeTBP [ <i>Medicago truncatula</i> ]	38	3,00E-25	93	<i>Medicago truncatula</i>	Cytochrome P450
		RRNA intron-encoded homing endonuclease [ <i>Medicago truncatula</i> ]	37	2,00E-20	91	<i>Medicago truncatula</i>	RRNA intron-encoded homing endonuclease
		transposase [ <i>Chlamydomonas reinhardtii</i> ]	59	5,00E-07	33	<i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	transposase
		indole-3-acetic acid inducible 27 [ <i>Arabidopsis thaliana</i> ]	50	5,00E-04	33	<i>Arabidopsis thaliana</i>	indole-3-acetic acid inducible
		Putative retroelement [ <i>Oryza sativa Japonica Group</i> ]	66	6,00E-04	38	<i>Oryza sativa</i>	Putative retroelement
OFF 13	287	extensin class I (clone w10-1 L) - tomato (fragment)	26	2,00E-06	58	<i>Solanum esculentum</i>	extensin

		No Apical Meristem domain-containing protein [Arabidopsis thaliana] >gb AAC24058.1  Contains similarity to no-apical-meristem (NAM) protein gb X92205 from Petunia hybrida [Arabidopsis thaliana] >gb AAAY78657.1  apical meristem formation protein-related [Arabidopsis thaliana] >gb AEE33674.1  No Apical Meristem domain-containing protein [Arabidopsis thaliana]	49	7,00E-05	32	<i>Arabidopsis thaliana</i>	No Apical Meristem domain-containing protein
OFF 17	857	cytochrome P450-like TBP protein [Lilium longiflorum]	39	3,00E-54	96	<i>Lilium longiflorum</i>	cytochrome P450-like TBP protein
		senescence-associated protein [Picea abies]	35	3,00E-50	100	<i>Picea abies</i>	senescence-associated protein
		ATP synthase subunit beta [Medicago truncatula]	47	1,00E-37	58	<i>Medicago truncatula</i>	ATP synthase
		RRNA intron-encoded homing endonuclease [Medicago truncatula]	33	3,00E-26	92	<i>Medicago truncatula</i>	RRNA intron-encoded homing endonuclease
		proline rich protein [Santalum album]	29	6,00E-15	45	<i>Santalum album</i>	proline rich protein
		Zinc finger C2H2 type family protein [Medicago truncatula] >gb ABD32946.1  Zinc finger, C2H2-type [Medicago truncatula] >gb AES66587.1  Zinc finger C2H2 type family protein [Medicago truncatula]	26	3,00E-04	32	<i>Medicago truncatula</i>	Zinc finger C2H2
OFF 21	278	Mitochondrial protein, putative [Medicago truncatula]	85	5,00E-50	95	<i>Medicago truncatula</i>	Mitochondrial protein
		ORF124 [Pinus koraiensis]	25	2,00E-07	71	<i>Pinus koraiensis</i>	ORF124
		DNA (cytosine-5)-methyltransferase 3A [Medicago truncatula] >gb ABN08037.1  PWWP [Medicago truncatula] >gb AES82478.1  DNA (cytosine-5)-methyltransferase 3A [Medicago truncatula]	59	2,00E-05	33	<i>Medicago truncatula</i>	DNA (cytosine-5)-methyltransferase 3A
		white-brown-complex ABC transporter family [Populus trichocarpa]	49	2,00E-04	37	<i>Populus trichocarpa</i>	white-brown-complex ABC transporter
OFF 24	597	NADH dehydrogenase, putative [Ricinus communis]	64	6,00E-89	91	<i>Ricinus communis</i>	NADH dehydrogenase
		Os03g0313000 [Oryza sativa Japonica Group] >gb ABF95596.1  ETC complex I subunit conserved region family protein, expressed [Oryza sativa Japonica Group] >dbj BAF11840.1  Os03g0313000 [Oryza sativa Japonica Group]	64	1,00E-69	73	<i>Oryza sativa</i>	ETC complex I subunit conserved region
OFF 26	479	protein maternal effect embryo arrest 59 [Arabidopsis thaliana] >gb AAK44007.1 AF370192_1 unknown protein [Arabidopsis thaliana] >emb CAB16754.1  putative protein [Arabidopsis thaliana] >emb CAB80396.1  putative protein [Arabidopsis thaliana] >gb AAK62646.1  AT4g37300/C7A10_60 [Arabidopsis thaliana] >gb AAL06813.1  AT4g37300/C7A10_60 [Arabidopsis thaliana] >gb AAL33781.1  unknown protein [Arabidopsis thaliana] >gb AEE86779.1  protein maternal effect embryo arrest 59 [Arabidopsis thaliana]	45	2,00E-12	39	<i>Arabidopsis thaliana</i>	protein maternal effect embryo arrest



		maturase [ <i>Jasminum nudiflorum</i> ]	38	9,00E-05	31	<i>Jasminum nudiflorum</i>	maturase
OFF 29	703	Pollen Ole e 1 allergen and extensin family protein [ <i>Arabidopsis thaliana</i> ] >ref NP_001189618.1  Pollen Ole e 1 allergen and extensin family protein [ <i>Arabidopsis thaliana</i> ] >gb AAS65937.1  At2g27385 [ <i>Arabidopsis thaliana</i> ] >gb AAS88776.1  At2g27385 [ <i>Arabidopsis thaliana</i> ] >dbj BAF01424.1  hypothetical protein [ <i>Arabidopsis thaliana</i> ] >gb AEC07989.1  Pollen Ole e 1 allergen and extensin family protein [ <i>Arabidopsis thaliana</i> ] >gb AEC07990.1  Pollen Ole e 1 allergen and extensin family protein [ <i>Arabidopsis thaliana</i> ]	63	2,00E-30	44	<i>Arabidopsis thaliana</i>	extensin family protein
		TRANSPORT INHIBITOR RESPONSE 1 protein, putative [ <i>Ricinus communis</i> ]	18	1,00E-04	35	<i>Ricinus communis</i>	Transport Inhibitor Response 1 protein
OFF 30	403	Chaperone protein dnaJ 11, chloroplast precursor, putative [ <i>Ricinus communis</i> ]	46	1,00E-22	66	<i>Ricinus communis</i>	Chaperone protein dnaJ
		DNAJ heat shock N-terminal domain-containing protein [ <i>Arabidopsis thaliana</i> ] >gb AAK55668.1 AF378865_1 At2g17880 [ <i>Arabidopsis thaliana</i> ] >gb AAM10274.1  At2g17880/At2g17880 [ <i>Arabidopsis thaliana</i> ] >gb AAM64303.1  putative DnaJ protein [ <i>Arabidopsis thaliana</i> ] >dbj BAE99221.1  putative DnaJ protein [ <i>Arabidopsis thaliana</i> ] >gb AEC06698.1  DNAJ heat shock N-terminal domain-containing protein [ <i>Arabidopsis thaliana</i> ]	46	1,00E-11	44	<i>Arabidopsis thaliana</i>	DNAJ heat shock
OFF 31	704	lipid transfer protein [ <i>Dimocarpus longan</i> ]	40	2,00E-36	56	<i>Dimocarpus longan</i>	lipid transfer protein
		non-specific lipid transfer protein [ <i>Prunus armeniaca</i> ]	42	6,00E-34	50	<i>Prunus armeniaca</i>	non-specific lipid transfer protein
		phospholipid transfer protein 1 [ <i>Zea mays</i> subsp. <i>parviglumis</i> ]	39	6,00E-34	53	<i>Zea mays</i>	phospholipid transfer protein 1
OFF 32	309	Mitochondrial protein, putative [ <i>Medicago truncatula</i> ]	79	9,00E-51	93	<i>Medicago truncatula</i>	Mitochondrial protein
		ORF124 [ <i>Pinus koraiensis</i> ]	23	2,00E-07	71	<i>Pinus koraiensis</i>	ORF124
		cation-transporting p-type ATPase [ <i>Micromonas</i> sp. RCC299]	33	3,00E-05	43	<i>Micromonas</i> sp.	cation-transporting p-type ATPase
		DNA (cytosine-5)-methyltransferase 3A [ <i>Medicago truncatula</i> ] >gb ABN08037.1  PWWP [ <i>Medicago truncatula</i> ] >gb AES82478.1  DNA (cytosine-5)-methyltransferase 3A [ <i>Medicago truncatula</i> ]	46	8,00E-05	33	<i>Medicago truncatula</i>	DNA (cytosine-5)-methyltransferase 3A
OFF 33	666	endo-1,4-beta-glucanase, putative [ <i>Ricinus communis</i> ]	38	7,00E-49	86	<i>Ricinus communis</i>	endo-1,4-beta-glucanase
		glycosyl hydrolase family 9 [ <i>Populus trichocarpa</i> ]	38	1,00E-46	81	<i>Populus trichocarpa</i>	glycosyl hydrolase family

		cellulase [Fragaria x ananassa] >gb ACS45173.1  endo-1,4-beta-glucanase [Fragaria x ananassa]	36	5,00E-31	64	Fragaria sp.	cellulase
OFF 35	448	aquaporin PIP2;4 [Vitis vinifera]	81	1,00E-74	86	Vitis vinifera	aquaporin PIP2
		plasma membrane intrinsic protein 2-2 [Pyrus communis]	81	1,00E-71	84	Pyrus communis	plasma membrane intrinsic protein
		prolactin-inducible protein [Glycine max]	81	5,00E-65	77	Glycine max	prolactin-inducible protein
OFF 36	275	hypothetical protein SORBIDRAFT_03g026090 [Sorghum bicolor]	94	1,00E-06	24	Sorghum bicolor	
OFF 42	1031	RNA binding protein, putative [Ricinus communis]	41	1,00E-68	74	Ricinus communis	RNA binding protein
		nuclear transport factor 2 family protein [Arabidopsis lyrata subsp. lyrata]	41	2,00E-66	73	Arabidopsis thaliana	nuclear transport factor 2 family protein
		Ras GTPase-activating protein-binding protein [Medicago truncatula]	40	2,00E-58	65	Medicago truncatula	Ras GTPase-activating protein-binding protein
		Os03g0418800 [Oryza sativa Japonica Group] >gb AAP44616.1  putative GAP SH3 binding protein [Oryza sativa Japonica Group] >gb AAR01693.1  putative GAP SH3 binding protein [Oryza sativa Japonica Group] >gb ABF96647.1  Nuclear transport factor 2 domain containing protein, expressed [Oryza sativa Japonica Group] >dbj BAF12291.1  Os03g0418800 [Oryza sativa Japonica Group] >dbj BAG95185.1  unnamed protein product [Oryza sativa Japonica Group] >gb EEE59264.1  hypothetical protein OsJ_11284 [Oryza sativa Japonica Group]	34	5,00E-35	54	Oryza sativa	putative GAP SH3 binding protein
OFF 45	571	plastidic aldolase [Solanum tuberosum]	99	1,00E-132	97	Solanum tuberosum	plastidic aldolase
		fructose-bisphosphate aldolase, putative [Ricinus communis]	99	8,00E-130	95	Ricinus communis	fructose-bisphosphate aldolase
OFF 46	360	NADH-plastoquinone oxidoreductase, putative [Ricinus communis]	84	1,00E-71	95	Ricinus communis	NADH-plastoquinone oxidoreductase
OFF 47	1078	PREDICTED: probable protein ABIL5 [Vitis vinifera]	69	7,00E-79	53	Vitis vinifera	protein ABIL5
		Protein ABIL1 [Medicago truncatula]	40	4,00E-24	35	Medicago truncatula	Protein ABIL1
		Protein ABIL3 [Medicago truncatula]	63	4,00E-18	24	Medicago truncatula	Protein ABIL3
		kinase-like protein [Corylus avellana]	15	4,00E-04	32	Corylus avellana	kinase-like protein

